VERHALTEN DER HARNSÄURE-PLASMASPIEGEL UND DER HARNSÄURE-AUSSCHEIDUNG BEI DOSIERTER BELASTUNG MIT RIBONUKLEINSÄURE AUS HEFE UNTER DEN BEDINGUNGEN EINER PURINFREIEN FORMELDIÄT.

INGRID HAUBERGER

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546011_0091

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

VERHALTEN DER HARNSÄURE-PLASMASPIEGEL UND DER HARNSÄURE-AUSSCHEIDUNG BEI DOSIERTER BELASTUNG MIT RIBONUKLEINSÄURE AUS HEFE UNTER DEN BEDINGUNGEN EINER PURINFREIEN FORMELDIÄT.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinschen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ingrid H a u b e r g e r
aus München

München 1971

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr.N.Zöllner

Koreferent: Professor Dr.W.Seitz

Dekan: Professor Dr.Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

13.Juni 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Inhaltsverzeichnis

A. Formeldiät als Basis für Ernährungsexperimente, bisherige Studien zu Purinbelastungen

B. Verhalten der Harnsäure-Plasmaspiegel und der Harnsäureausscheidung bei dosierter Belastung mit Ribonukleinsäure aus Hefe unter den Bedingungen einer purinfreien Formeldiät.

I. Methodik
1. Anordnung des Ernährungsexperiments
2. Versuchspersonen
3. Ermittlung des Kalorienbedarfs
4. Zusammensetzung der Diät und Berechnung der benötigten Mengen an Kohlenhydraten, Fett und Eiweiß.
5. Zubereitung und Verabreichung der Diät
6. Versuchsablauf und Versuchstechnik
7. verwendete Ribonukleinsäure
8. chemische Methoden zur Bestimmung von Harnsäure, Kreatinin und Harnstoff N.
9. Berechnung der aus unseren Meßergebnissen abgeleiteten Sekundärparameter.

II. Ergebnisse
1. Werte aus dem Plasma
2. Regression und Korrelation zwischen Höhe der RNS-Belastung und dem Anstieg der Harnsäure im Plasma.
3. Werte aus dem Urin

III. Diskussion
1. Verhalten der Harnsäure im Plasma
2. Regression zwischen Belastung und Harnsäurespiegel, Berechnung einer exponentiellen Funktion.
3. Verhalten der Harnsäure im Urin
4. Untersuchungen zur Frage der Harnsäureausfällung im Urin.

IV. Zusammenfassung

V. Literaturverzeichnis

THEMA: Verhalten der Harnsäure-Plasmaspiegel und der Harnsäureausscheidung bei dosierter Belastung mit Ribonukleinsäure aus Hefe unter den Bedingungen einer purinfreien Formeldiät.

EINLEITUNG

Formeldiäten, speziell flüssige Formeldiäten haben sich in den letzten 15 Jahren als Basis für Ernährungsversuche bewährt, worüber kürzlich AHRENS jr. [1] zusammenfassend berichtet hat. Wenn man Versuchspersonen unter den Bedingungen einer Formeldiät einem Ernährungsexperiment aussetzt, in dem man z.B. den Metabolismus bestimmter, auch in der Nahrung vorkommender Substanzen bestimmen will, so zeigt sich, daß die unter den Bedingungen einer Formeldiät gemessenen Parameter, wie Blutspiegel oder Ausscheidungsrate, wesentlich geringere Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert aufweisen, als bei freigewählter Ernährung oder bei Standarddiät. So wird es möglich, bei einer kleineren Zahl von Versuchspersonen, als bei Standarddiät benötigt werden, Aussagen mit gleich guter Verläßlichkeit zu machen. (Zöllner [48]) Aus diesen Gründen haben wir für unsere Untersuchung eine flüssige Formeldiät als Basisdiät gewählt.

Die Auswirkungen von Harnsäurevorläufern, wie Hefe, nukleinsauren Salzen und insbesondere Ribonukleinsäure wurden speziell in Deutschland mit den ersten Arbeiten von WEINTRAUD (1895), UMBER (1896), und schließlich MINKOWSKI (1898) und der Arbeitsgruppen BURIAN UND SCHUR (1900 - 1906) und SCHITTENHELM (1909) genauer studiert. (zit. nach LÖFFLER et al 1955 [21]). Aus den letzten 12 Jahren liegen eingehende Studien von NUGENT et al (1959 [28] und 1965 [26]), GUTMAN et al (1959 [16]), SEEGMILLER et al (1962 [34])

und WASLIEN et al (1968 [40]) zu diesem Thema vor. Lediglich die letztgenannten Autoren verwenden ebenfalls eine Formeldiät. Es schien daher angebracht, die Ergebnisse der obengenannten Autoren unter Formeldiätbedingungen zu überprüfen und zusätzlich die Frage zu klären, nach welchem Zeitraum der Belastung es zu einem Steady-state der Plasmaharnsäure und der Harnsäureausscheidung kommt. Wir wählten dabei die einzelnen Belastungsstufen niedriger, (1 und 2 g RNS/VP) und erweiterten den Zeitraum der Belastungsdauer von 5 auf 10 bis 13 Tage.

HAUPTTEIL

I. Methodik

1. Anordnung des Ernährungsexperiments.

Gesunde Versuchspersonen wurden zunächst mit einer purinfreien Formeldiät ernährt. Dabei fielen die Plasmaharnsäure und die Harnsäureausscheidung ab. Sobald die Harnsäurespiegel im Plasma ein Steady-state erreicht hatten, wurde unter Fortführung der purinfreien Formeldiät Ribonukleinsäure in steigenden Dosen zugesetzt und das Verhalten der Harnsäurespiegel im Plasma und Urin beobachtet. Die Einzelheiten des Versuchsablaufs gehen aus Kapitel I/6 hervor.

2. Versuchspersonen

Die Untersuchungen wurden an einer Gruppe von 5 freiwilligen gesunden Personen, 2 männlichen und 3 weiblichen im Alter von 22 - 32 Jahren durchgeführt. Eine Übersicht über Alter, Größe, Körperoberfläche und den Faktor zur Standardisierung des Harnzeitvolumens und der davon abgeleiteten Größen auf die Normkörperoberfläche von 1,73 m^2 ergibt sich aus Tabelle I.

3. Ermittlung des Kalorienbedarfs.

Zunächst wurde unter Berücksichtigung von Größe und Gewicht die Körperoberfläche der Versuchspersonen bestimmt. Dabei wurden die Werte aus dem Nomogramm von D. und E.F. DU BOIS [8] 1916 verwendet, wie sie in den wissenschaftlichen Tabellen DOCUMENTA GEIGY [10] angegeben sind. Unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht der

Versuchspersonen lfd.Nr.	Name	Geschlecht	Alter Jahre	Größe m	Gewicht kg	körperoberfläche m^2	$f=\frac{1,73}{ko}$	P_{Hsr} mg%
1	A.G.	m	32	1,82	85,6	2,06	0,84	7,25
2	J.H.	w	22	1,59	48,0	1,47	1,18	4,92
3	L.J.	m	22	1,84	76,5	2,00	0,87	6,17
4	E.K.	w	23	1,62	49,0	1,51	1,15	4,80
5	D.N.	m	22	1,65	52,3	1,57	1,10	3,80
$\bar{X}$			24,2	1,74	62,3	1,72	1,28	5,39

Tabelle I: Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht, Körperoberfläche, Standardisierungsfaktor und Plasmaharnsäurespiegel vor Versuchsbeginn bei freigewählter Kost.

Versuchspersonen lfd.Nr.	Name	Grundumsatz Kcal/m^2/h	Kcal/VP/24h	errechneter Tagesarbeitsumsatz f=1,8 Kcal/VP/24 h	verabreichte Kalorien Kcal/VP/24h
1	A.G.	37,2	1839	3310	3310
2	J.H.	35,2	1242	2235	2235
3	L.J.	39,2	1881	3386	3386
4	E.K.	35,2	1275	2296	2296
5	D.N.	35,2	1326	2387	2387
$\bar{X}$		36,4	1513	2723	2723

Tabelle II: Grundumsatz pro m^2 Körperoberfläche und Stunde, pro Versuchsperson und 24 Stunden, sowie errechneter Arbeitsumsatz pro 24 Stunden, sowie verabreichte Kalorien pro 24 Stunden (letztere entsprechen im Gegensatz zur Standarddiät (vergleiche Diss. Jakob) genau dem errechneten Bedarf)

Versuchspersonen wurde nach Angaben von BOOTHBY 1954 nach [44] der Grundumsatz pro Quadratmeter Körperoberfläche und pro Stunde ermittelt. Daraus errechnet sich dann, mittels der Körperoberfläche, der Grundumsatz pro Versuchsperson und pro Stunde. Dieser wird schließlich auf den Tagesgrundumsatz (kcal/24 h) umgerechtnet.

Um diese Werte auf den täglichen Kalorienbedarf der Versuchspersonen unter Arbeitsbedingungen umzurechnen, wurde nach Angaben von ZÖLLNER (1957 [44] S. 53) der errechnete Tagesgrundumsatz mit dem Faktor 1,8 multipliziert. Dieser Umrechnungs-Faktor entspricht einer Tätigkeit zwischen normaler Haus- und Büroarbeit (1,9). Diese beiden genannten Tätigkeitsmerkmale begrenzen am besten die tatsächliche körperliche Leistung unserer Versuchspersonen, die zum Teil Studenten mit Vorlesungen und Laborarbeit, zum Teil Sekretärinnen mit Büro- und Hausarbeit waren.

Auf diese Weise ergibt sich aus einem mittleren Tagesgrundumsatz von 1513 kcal/VP ein mittlerer täglicher Arbeitsumsatz von 2723 kcal/VP. Dieser konnte durch die genaue Errechenbarkeit der Formeldiät für jede Versuchsperson genau eingehalten werden.

Eine Übersicht über den errechneten Kalorienbedarf unter Arbeitsbedingungen gibt Tabelle II.

4. Zusammensetzung der Diät.

Um Schwankungen der Purinzufuhr zu vermeiden, wie sie unter einer Standarddiät auftreten können, und um somit eine geringere Streuung der Einzelwerte zu erhalten, erhielten die Versuchpersonen eine völlig purinfreie Formeldiät. Diese enthielt wie eine flüssige Formeldiät die Grundnahrungsstoffe Kohlen-

hydrate, Fett und Eiweiß in möglichst reiner Form, wobei wir völlig purinfreies Eiweiß verwendeten. Als Kohlenhydrate diente uns Dextrosin der Firma Maizena, das aus Oligosacchariden besteht, als Fett Kokosfett mit einem Zusatz von Mazolaöl und als Eiweiß Magermilchsprühpulver, welches uns der Milchhof München zur Verfügung stellt. Bei unserer Formeldiät wählten wir folgendes Verhältnis der Grundnachrungsstoffe:
55 % der Kalorien aus Kohlenhydrate
30 % der Kalorien aus Fett
15 % der Kalorien aus Eiweiß.

Berechnung der erforderlichen Menge von Eiweiß, Kohlenhydraten und Fett.

A. Berechnung der benötigten Eiweißmenge.
Als Eiweiß diente purinfreies Magermilchsprühpulver mit folgender Zusammensetzung:

33 % Eiweiß
47 % Kohlenhydrate 23,5 % Glucose, 23,5 % Galaktose
55,5 % Wasser
0,73 % Fett

Um zu errechnen, weiviel g Eiweiß bzw. Magermilchsprühpulver für den individuellen Kalorienbedarf der Versuchspersonen benötigt wird, erfolgt zunächst die Berechnung der benötigten Eiweißmenge pro 100 kcal. Von 100 kcal. entfallen 15 % auf Eiweiß, d.h. 15 Kcal. 1 g Eiweiß liefert 4 kcal., für eine kcal werden so 0,25 g Eiweiß gebraucht, also werden für 15 kcal 15 x 0,25 g = 3,75 g reines Eiweiß benötigt.
Da das Magermilchsprühpulver nur 33 % Eiweiß enthält, werden für 15 Eiweißkalorien $\frac{3,75 \cdot 100}{33}$ g = 11,36 g Milchpulver benötigt.
Die für 100 kcal benötigte Eiweißmenge wird mit

dem Kalorienbedarf pro 24 Stunden multipliziert, und ergibt so die benötigte Eiweißmenge pro Tag. (Vergleiche auch Tabelle III)

B. Berechnung der benötigten Kohlenhydratmenge.
Als Kohlenhydrate dienten uns überwiegend Oligosaccharide in Form von Dextrosin Maizena. Daneben werden auch die im Magermilchsprühpulver enthaltenen Kohlenhydratmengen berücksichtigt. Für die Zusammensetzung des Dextrosin Maizena liegt folgende Analyse vor:
95 % Kohlenhydrate
5 % Wasser
Von 100 kcal entfallen 55 %, d.h. 55 kcal auf Kohlenhydrate. Bei einem Brennwert von 4 kcal pro Gramm Kohlenhydrat, ergibt sich: 1 kcal entspricht 0,25 g KH. Somit werden für 55 kcal 55 x 0,25 g = 13,75 g Kohlenhydrate benötigt.
Im Magermilchsprühpulver sind pro 100 g Substanz 47 g Kohlenhydrate enthalten. Mit der pro 100 kcal benötigten Eiweißmenge bzw. Magermilchsprühpulvermenge von 11,36 g werden also 5,22 g KH bereits zugeführt. Daher verbleiben noch 13,75 g - 5,22 g = 8,53 g KH, die durch das Dextrosin gedeckt werden müssen. Da Dextrosin 5 % Wasser enthält, (Luftfeuchtigkeit) muß dieser Wert auf 8,97 g Dextrosin korrigiert werden. Die für 100 kcal benötigte Menge an Kohlenhydraten wird ebenfalls mit dem Kalorienbedarf pro 24 Stunden multipliziert, und so die pro Tag benötigte Menge ermittelt. (Vergleiche Tabelle III)

C. Berechnung der benötigten Fettmenge
Als Fett wurde Kokosfett mit einem Zusatz von 10 g Mazolaöl pro Tag verwendet. Von 100 Kcal fallen 30 %, d.h. 30 kcal auf Fett. Bei einem

lfd.Nr.	verabreichte Kalorien Kcal/VP/24 h	Kohlenhydrate %	Kcal/24h	g KH	Fett %	Kcal/24h	g F	Eiweiß %	Kcal/24h	g E	Purin-anteil
1	3310	55	1820,7	455,2	30	993,1	106,8	15	496,5	117,4	purinfrei
2	2235	55	1229,4	307,5	30	670,6	72,1	15	335,3	83,8	
3	3386	55	1862,4	465,6	30	1015,8	109,2	15	507,9	127,0	
4	2296	55	1262,8	315,2	30	688,8	74,0	15	344,4	86,1	
5	2387	55	1312,9	328,2	30	716,1	77,0	15	358,0	89,5	
$\bar{X}$	2723	55	1497,6	374,3	30	816,9	87,8	15	408,4	100,8	

Tabelle III: Aufteilung der verabreichten Kalorien in Prozenten und absolut auf Kohlenhydrate (KH), Fett (F) und Eiweiß (E), sowie Menge der Grundnahrungsstoffe in Gramm

Brennwert von 9 kcal pro Gramm Fett, ergibt sich daß für 1 kcal $\frac{1}{9}$ g Fett, für 30 kcal somit $\frac{1}{9}$ x 30 g = 3,33 g Fett benötigt werden.
Von dieser Menge müssen noch 0,083 g pro 100 kcal abgezogen werden, da diese schon mit dem Magermilchsprühpulver geliefert werden, welches 0,73 % Fett (d.s. bei 11,36 g/100 kcal 0,083 g) enthält.
Es verbleiben somit 3,25 g Fett, die noch durch Kokosfett zu decken sind.

10 g der täglich verabreichten Fettmenge wurden als Mazolaöl gegeben, um ausreichende Mengen an ungesättigten Fettsäuren zuzuführen.
Die Umrechnung der für den Tagesbedarf benötigten Fettmenge erfolgt wie bei Eiweiß und Kohlenhydrate. (Vergleiche Tabelle III)

5. Zubereitung und Verabreichung der Diät

Für die Zubereitung der Diät wurden verschiedene Geräte, wie ein Starmix, ein Emulgator, ein Kocher, sowie etwa 400-500 paraffinierte Milchtüten a 1/2 Liter benötigt. Wegen der begrenzten Kapazität des Mixgerätes wurde in zwei Portionen, jeweils die Hälfte der errechneten Tagesration von Dextrosin und Magermilchsprühpulver im Mixer mit Wasser zusammengeschüttet, dann wurde langsam geschmolzenes heißes Kokosfett in der errechneten Mange dazugegeben und verquirlt, bis ein zähflüssiger Brei entstand.
Der Gesamt-Tagesration fügten wir noch 3 g KCL und 5 g NaCL zu. Da das Fett bei ausreichend langem Rühren, in einem Zeitraum von 10-15 Minuten, sich gleichmäßig verteilte und eine Emulsion entstand, konnte auf die ursprünglich vorgesehene Emulgierung verzichtet werden. Der auf diese Weise entstandene

Nahrungsbrei wurde auf 2 bis 3 Tüten verteilt und im Eisschrank kaltgestellt. Er sollte von den Versuchspersonen im Verhältnis 1 Teil Brei auf 2 Teile Wasser angerührt und möglichst heiß getrunken werden. Dabei sollten die Versuchspersonen den Brei auf 3 - 5 Portionen über den Tag verteilt einnehmen. Erlaubt waren als Getränke zusätzlich Mineralwasser, und wegen ihres nicht in den Harnsäurestoffwechsel eingehenden Puringehaltes auch Tee und Bohnenkaffee mit Süßstoff, ferner zur Geschmacksverbesserung des Breis in kleinen Mengen Vanillepulver, Zimt, Zitronenessenz, sowie Kaffee- und Nescafepulver. Die Versuchspersonen erhielten die erforderlichen Vitamine und Mineralsalze in Form von Brausetabletten. Wir verwendeten ausschließlich Supradyn^{R}, ein Multivitaminpräparat, das uns entgegenkommenderweise die Firma Hofmann la Roche zur Verfügung stellte. Zur Stuhlregulierung war nur Paraffinöl, mit Geschmackskorrigens, wie es als Obstinol mild ^{R} im Handel ist, erlaubt.

Die Versuchspersonen wurden angehalten, die gesamte Tagesration aufzuessen. Nur in den ersten Tagen war es ihnen erlaubt, zur Vermeidung eines Widerwillens, die nicht verzehrte Menge an Nahrungsbrei zurückzubringen, die dann zurückgewogen wurde. Die Versuchspersonen gewöhnten sich in 2 - 3 Tagen mühelos daran, alles aufzuessen.

Um katabole oder anabole Vorgänge, wie sie durch zu geringe oder übermäßige Nahrungszufuhr entstehen können, zu erfassen, die eine Verfälschung der Harnsäurewerte ergeben könnten, da eine Abhängigkeit der Purinsynthese von der Eiweißzufuhr besteht, (BENEDICT ET AL 1949 [3]) mußten die Teilnehmer ihr Gewicht kontrollieren. Sie wurden angehalten sich täglich, möglichst im gleichen Bekleidungszustand (leicht bekleidet, ohne Schuhe) und um die gleiche Ziet, ca. 8 Uhr morgens, nüchtern und vor

dem Stuhlgang zu wiegen. Das Gewicht schwankte bei allen 5 Personen um nicht mehr als ± 1 kg. Während der vierwöchigen Dauer des Versuches klagte keiner der Teilnehmer über Hungergefühle.
Die größte Schwierigkeit bei der Durchführung der Formeldiät brachte die Überwindung der psychischen Faktoren. Die Versuchspersonen klagten über Widerwillen gegen die Formeldiät, Völlegefühl, übersteigerten Appetit auf andere Nahrungsmittel. Teilweise waren die Versuchspersonen selbst schuld, wenn die Verträglichkeit des Breis schlechter war oder Widerwillen auftrat, da sie den Brei entgegen der Anweisung zu wenig verdünnten, oder zu rasch in großen Mengen einnahmen, was durch osmotische Vorgänge zu einer Art Dumping-Symptomatik führte. Teilweise war der Brei auch in der Konsistenz nicht immer optimal, manchmal zu körnig durch das nicht fein genug verteilte Fett. Die groben Fettkörnchen verursachten in erster Linie Widerwillen, weniger oft war es der eintönige, fast fade Geschmack. Am Unangenehmsten für die Versuchspersonen war das täglich gleiche Essen, bzw. die fehlende Abwechslung, daran konnten auch die verschiedenen, immer etwas variierten Geschmackszusätze nichts ändern.
Zwischendurch wurde eine andere Art Magermilchsprühpulver geliefert, das nach Champignon schmeckte, und kaum zu genießen war, ein Umstand, der sich aber rasch beheben ließ. Trotz aller geschilderten Schwierigkeiten hielten alle 5 Versuchspersonen die Formeldiät über die volle Versuchsdauer von 4 Wochen ein.

6. Versuchsablauf und Versuchstechnik

a.) Zeitlicher Ablauf

Der gesamte Versuch dauerte 31 Tage. Zuerst wurden über 3 Tage Plasmaharnsäure und Harnsäureausscheidung unter Normalkost bestimmt. Anschließend begann die Stufe der

purinfreien Kost, die 10 Tage dauerte. Es mußte solange abgewartet werden, bis sich im Plasma ein Steady-state eingestellt hatte. Die erste Belastungsstufe begann mit der Verabreichung von 1 g RNS pro Tag und pro Versuchsperson. Die geringen Unterschiede im Gewicht der Versuchspersonen wurden hierbei vernachlässigt.
Die RNS-Menge von 1 g wurde als Tagesportion in Form von 4 Oblaten zu je 250 mg den Versuchspersonen mitgegeben. Dabei wurde die Einnahmezeit wie folgt festgelegt:

1. Einnahme 8 - 10 Uhr
2. Einnahme 11 - 13 Uhr
3. Einnahme 16 - 18 Uhr
4. Einnahme 20 - 22 Uhr

Dadurch sollte eine Verfälschung des Ergebnisses durch willkürliche Häufung der Einnahmedosis in den Morgen- oder Abendstunden vermieden werden. Wieder warteten wir ein Steady-state im Plasma ab. Dies war nach weiteren 10 Tagen erreicht. Am 20. Versuchstag begann die 2. Belastungsstufe mit 2 g RNS, die insgesamt 13 Versuchstage dauerte.
(Vergleiche Tabelle IV und Abbildung B, S. 28)

b.) Blutabnahme

Die Blutabnahme erfolgte jeden 2. bzw. 3. Tag und zwar jeweils Montag, Mittwoch und Freitag. Es wurden den Versuchspersonen morgens nüchtern gegen 7^{30} - 8^{00} Uhr 2-3 Reagenzgläser Blut zu je 10 ml aus der Cubitalvene entnommen. Wir verwendeten bei der Abnahme ausreichend große Nadeln, 1,1 mm Kanülen, um eine Hämolyse zu vermeiden. Das Blut wurde sofort zweimal 5 Minuten lang bei 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und

der Serumüberstand entweder sofort bearbeitet oder tiefgefroren. Bei der Berechnung ist wichtig, daß bei dem Wechsel der RNS-Zulagen die letzte Blutabnahme einer Periode am ersten Tag der neuen Belastungsstufe durchgeführt wurde. Die daraus bestimmte Harnsäurekonzentration gehört noch zur vorangegangenen Periode.

c.) Sammlung und Verarbeitung des Urins

Die Versuchspersonen mußten über 24 Stunden den gesamten anfallenden Urin in Plastikflaschen sammeln. (Fassungsvermögen 1 Liter)
Die Sammelzeit erstreckte sich von morgens 7 Uhr bis zum nächsten Tag 7 Uhr. Die Versuchspersonen wurden angehalten, soviel wie möglich zu trinken, mindestens aber soviel, wie zur Erzielung eines 24 - Stundenurins von über 1500 ml notwendig ist. Es ist nämlich ein Harnzeitvolumen von der Größe 1,0 ml/min oder 1440 ml/Tag erforderlich, um Harnsäure proportional auszuscheiden (BROCHNER-MORTENSEN 1937 [6]). Auch wird bei einem hohen Harnzeitvolumen der Sammelfehler prozentual geringer. Wenn z.B. eine Versuchsperson vergaß, die morgendliche Urinmenge mit der Menge des Vortages abzugeben, und diese 100 ml beträgt, so ergibt dies bei einem Harnzeitvolumen von 500 ml einen Fehler von 20 %, während er bei einem Harnzeitvolumen von 1500 ml nur 6,7 % betragen würde.
Der Urin mußte kalt aufbewahrt und immer gut verschlossen werden. Da im Sammelharn möglicherweise geringe Mengen der Urate ausfallen können, mußte der 24- Stundenharn kräftig gerührt bzw. geschüttelt werden. Erst nach vollständiger Suspension des Niederschlags konnte eine aliquote Menge von 5 bis 10 ml entnommen werden. Da Harnsäure im alkalischen Milieu bereits an der Luft oxydiert und durch Bakterien auch abgebaut wird,

wurde der Harn durch Zugabe von 5 ml einer 5n HCL-Lösung pro Flasche sauer gehalten und Bakteriicidie angestrebt. Diese Ansäuerung führte jedoch in unserem Versuch zu einer unerwartet starken Ausfällung von Harnsäure. Da unter Standarddiät bei sonst gleichen Bedingungen dies nicht der Fall ist, (vgl. Diss. JAKOB [19]) stellt sich die Frage, ob unter Normalkost bzw. Standarddiät im Urin Löslichkeitsvermittler, die von der Art der Nahrung abhängig sind, vorhanden sind, die unter Formeldiätbedingungen fehlen. Diese Problematik wird in der Diskussion erörtert.

7. verwendete Ribonukleinsäure

Die Ribonukleinsäure aus Hefe wurde in Pulverform von der Firma Biochemica Boehringer in Tutzing geliefert. (Best. Nr. 15332)
Die von der Firma durchgeführte säulenchromatographische Analyse ergab, daß die Nukleotide AMP (Adenosinmonophosphat), GMP (Guanosinmonophosphat), CMP (Cytidinmonophosphat), UMP (Uridinmonophosphat) im Verhältnis 1 : 1 : 0,8 :1 vorlagen. Daraus errechnet sich ein Purin-N Gehalt von 114 mg pro 1 g RNS.
Zur Verabfolgung an die Versuchspersonen wurde jeweils eine Menge von 250 mg genau auf der Mikrowaage abgewogen und in eine Oblate gefüllt. Die Versuchspersonen wurden angehalten, die Oblaten gleichmäßig über den Tag verteilt zu nehmen und zwar zu den genau festgelegten, etwa den Hauptmahlzeiten entsprechenden Zeiten (siehe Kapitel I, 6 a)

8. Chemische Methoden zur Bestimmung von Harnsäure, Kreatinin und Harnstoff N.

a.) enzymatische Bestimmung der Harnsäure.
Diese Methode beruht darauf, daß Harnsäure ein charakteristisches hohes Absorptionsmaximum im ultravioletten Wellen-

bereich von 293 Nanometer besitzt. Durch Einwirkung von Uricase verschwindet diese typische Absorptionsbande. Auf dieser Grundlage arbeiteten Kalckar und Shafran [20] , als sie im Jahr 1939 die Harnsäure enzymatisch nachwiesen. Praetorius und Poulsen [32] entwickelten 1953 diese Methode weiter. Wir benutzten zur enzymatischen Bestimmung eine Modifikation nach Zöllner (1963 [42]), die ohne Einbuße an Genauigkeit den Zeitaufwand und Arbeitsaufwand stark verringert und daher für die große Zahl der Bestimmungen, die sich bei uns auf etwa 100 pro Woche beliefen, besonders gut geeignet war.
Die Abnahme der Extinktion bei 293 Nanometer ist der Harnsäurekonzentration direkt proportional und zwar führt die enzymatische Spaltung von 1 ug pro ml bei einer Schichtdicke von 10 mm zu einer Extinktionsabnahme von 0,0745.

Durchführung:

Als Lösungen wurden verwendet Glycin-Puffer-Gebrauchslösung. Man erhält sie durch Verdünnung 1 : 10 der Stammlösung mit Aqua bidestillata. Die Stammlösung wird wie folgt hergestellt: 25 g kristallines Glycin werden in 200 ml destilliertem Wasser aufgelöst. Nach Hinzufügen von 110 ml 1n NaOH wird mit Aqua destillata auf 500 ml aufgefüllt. Diese Lösung ist 2/3 molar und weist einen pH von 9,3 auf. Die maximale enzymatische Wirksamkeit der Uricase leigt bei einem pH von 9,3 des Puffers, der an der Glaselektrode kontrolliert wurde. Die Pufferstammlösung konnte im Eisschrank unter Chloroform fast unbeschränkt aufbewahrt werden; wir hatten jedoch wegen der täglich großen verbrauchten Mengen (ca. 80 ml täglich) keine Schwierigkeiten mit überalterten Lösungen. Die Gebrauchslösung mußte vor jeder Bestimmungen hergestellt werden. Um bakterielle

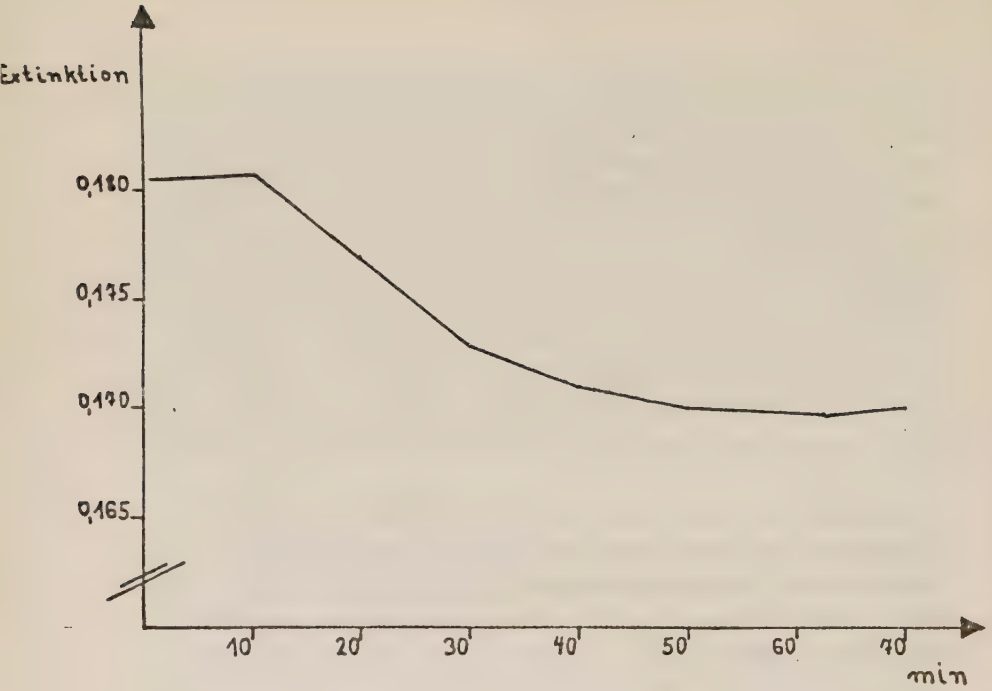


ABBILDUNG A1.) Bestimmung der Zeitdauer für die vollständige Spaltung der Harnsäure in einer 10 mg% Harnsäurelösung. (10 mg/100 ml)

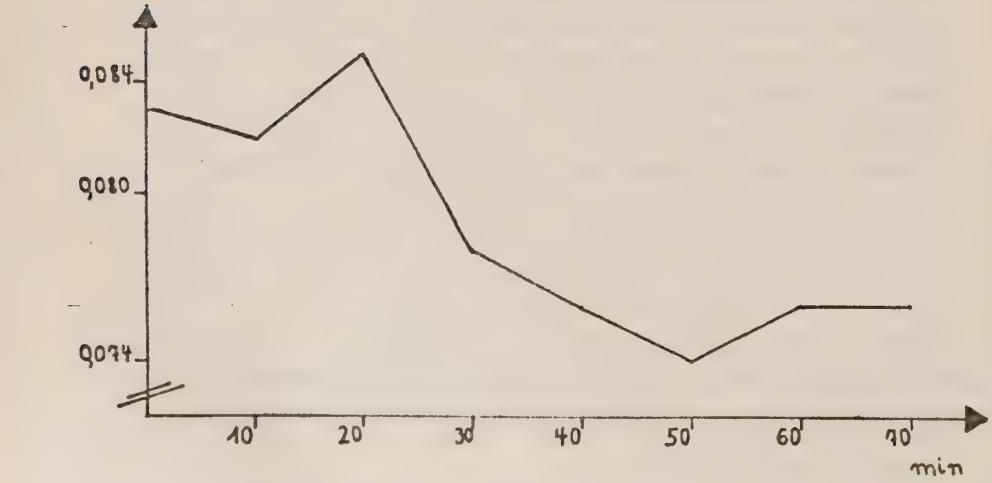


ABBILDUNG A2.) Bestimmung der Zeitdauer für die vollständige Spaltung der Harnsäure in einer 5 mg% Harnsäurelösung. (5 mg/100 ml)

Verunreinigungen zu vermeiden, ist der Stammlösung Chloroform bis zur Sättigung zugesetzt.

Uricase - Gebrauchslösung

Als Enzym wurde Uricase Leo mit 75 Einheiten pro Ampulle verwendet. Der Inhalt einer Ampulle wird zunächst in o,25 ml Puffer-Gebrauchslösung aufgelöst und 15 Minuten inkubiert. Diese Uricase-Stammlösung ist im Kühlschrank 14 Tage haltbar. Vor Durchführung des Versuchs haben wir die Uricase-Stammlösung im Gegensatz zur Originalmethode (ZÖLLNER) mit Puffer-Gebrauchslösung 1 : 200 verdünnt. Diese Verdünnung ergab noch ausreichende Enzymkonzentration, allerdings wurde die Ablesungszeit verlängert. (Vergleiche Abb. A 1 u. 2) Um kein Enzym zu verlieren, überführten wir die Uricase vorsichtig mit jeweils 1 bis 1,5 ml Puffer-Gebrauchslösung in 6 - 8 Gängen aus der Ampulle in einen Kolben von 50 ml. Anschließend wurde dieser Kolben mit der Puffer-Gebrauchslösung auf 50 ml aufgefüllt, um so die Verdünnung von 1 : 200 zu erreichen. In dieser Verdünnung ergibt sich unter den von uns gewählten Bedingungen ein Enzymgehalt von 1.5 Einheiten Uricase pro 1 ml der Lösung. Die Eigenextinktion der Uricase lag bei der Verdünnung 1 : 200 und einer Schichtdicke von 1 cm zwischen 0,010 und 0,020. Bei der Originalmethode (ZÖLLNER [42]) wurde eine Verdünnung 1 : 100 gewählt, die Eigenextinktion der Uricase lag dabei zwischen 0,010 und 0,015.

Herstellung der Serum- und Urinverdünnung

Das Serum verdünnt man 1 : 25, d.h. 0,4 ml Serum auf 10 ml Puffer-Gebrauchslösung. Der Urin wir 1 : 125 verdünnt, d.h. 0,2 ml auf 25 ml Puffer-Gebrauchslösung.

Folgende Ansätze wurden gemacht:

a) Bestimmung der Eigenextinktion der Uricase (E_U)

I. 3 ml Puffer-Gebrauchslösung (hintere Gläserreihe)
II. 2 ml Puffer-Gebrauchslösung und 1 ml Uricase-Gebrauchslösung (vordere Gläserreihe)

b) Bestimmung des Extinktionsabfalls (E_{IIS}) im Serum und Urin.

III. 1 ml Puffer-Gebrauchslösung, 2 ml verdünntes Serum (Urin) (hintere Gläserreihe)
IV. 1 ml Uricase-Gebrauchslösung, 2 ml verdünntes Serum (Urin) (vordere Gläserreihe)

Bei den Ablesungen am Photometer wird I gegen II, aber IV gegen III abgelesen.
Um die Zeit festzulegen, die von der Uricase gebraucht wird, um eine vollständige Harnsäurespaltung zu erreichen, führten wir Vorversuche durch.
Wir stellten uns als Standard eine 5 bzw. 10 % Harnsäurelösung her. (Wir lösten dabei 1 mg Harnsäure in 10 ml aqua destillata unter vorsichtigem Erwärmen auf. Dieser Standard wurde von uns wie Serum behandelt, und wir lasen alle 5 - 10 Minuten des Extinktionsabfall am Spektralphotometer ab. Unter den von uns gewählten Bedingungen ist eine vollständige Umsetzung nach 60 Minuten erreicht. (s. Abb. A).
Zur Sicherung des Ergebnisses haben wir bei allen Versuchen Doppelbestimmungen durchgeführt und die vollständige Enzymwirkung durch eine nochmalige Ablesung nach weiteren 10 Minuten kontrolliert.

Berechnung

Der Extinktionsabfall bei der Absorption der Harnsäure, die durch Enzymwirkung vollständig verschwindet, ist der Harnsäurekonzentration direkt proportional. Daher wird im UV-Photometer der Ansatz mit Serum und der darin enthaltenen Harnsäure und der Puffer-Gebrauchslösung auf 100 gestellt und der Extinktionsabfall gegen

die Küvette, die ursprünglich Serumharnsäure und Uricase enthält und nach der Umsetzung praktisch harnsäurefrei ist, also weniger UV-Licht absorbiert, gemessen. Da nur eine Küvette Uricase enthält, muß der Extinktionsdifferenz noch die Eigenextinktion des Enzyms zugezählt werden. Da der Extinktionskoeffizient 0,0745 beträgt, gilt:

$$Hsr = f \frac{(E_{HS} + E_U)}{0,0745} \quad [ug/ml]$$

Unter Berücksichtigung der Verdünnungen und Abrundung des Extinktionskoeffizienten, ergibt sich folgende Gleichung für:

Harnsäurekonzentration im Serum:

$$Hsr = \frac{(E_{HS} + E_U) \cdot 3 \cdot 10 \cdot 100}{0,075 \cdot 2 \cdot 0,4 \cdot 1000}$$

Der Quotient $\frac{3}{2}$ bedeutet dabei die Verdünnung des Serums in der Küvette durch Pufferzusatz, der Faktor 1000 die Umrechnung von ug in mg, der Faktor 100 die Umrechnung von mg pro ml in mg pro 100 ml. Durch Kürzen ergibt sich folgende Gleichung:

$$Hsr = \frac{E_{HS} + E_U}{2} \cdot 100 \quad [mg\ \%]$$

Harnsäurekonzentration in Urin:

$$Hsr = \frac{(E_{HS} + E_U) \cdot 3 \cdot 25 \cdot 100}{0,075 \cdot 2 \cdot 0,2 \cdot 1000}$$

Der Quotient $\frac{25}{0,2}$ entspricht der Vorverdünnung des Urins, die übrigen Zahlen wie oben.

Durch Kürzen ergibt sich:

$$Hsr = (E_{HS} + E_U) \cdot 250 \quad [mg\ \%]$$

b) Harnstoff - N Bestimmung

Durch Umsetzung mit Diacetylmonoxim und Eisenalaun entsteht ein zwischen 475 und 570 Nanometer absorbierender Farbstoff (Reaktion nach Fearon). Anschließend

wird am Autoanalyser eine kolorimetrische Bestimmung durchgeführt. (Methode nach Skeggs 1957 [30] und Marsh et al 1957 [24])

c) Kreatinin Bestimmung

Diese erfolgt gemäß der Jaffe-Reaktion: Kreatinin bildet in alkalischer Lösung mit Pikrinsäure eine rotbraune Farbe, deren Intensität bei 500 - 505 Nanometer photometrisch bestimmt wird. Da diese Methode sehr unspezifisch ist, muß man durch Absorption an Fuller-Erde oder an Ionenaustauscherharze das Kreatinin isolieren und dann den Kreatiningehalt bestimmen. (Methode nach Folin und Wu 1949 [18] und Stevens et al 1961 [39])

9. Berechnung der aus unseren Meßergebnissen abgeleiteten Großen, (Sekundärparameter)

Aus den primär bestimmten Parametern P_{Hsr} (Plasmaharnsäure) U_{Hsr} (Konzentration der Harnsäure im Urin), P_{Kr} (Plasmakreatinin), U_{Kr} (Konzentration von Kreatinin im Urin) und dem Harnvolumen ergeben sich weitere Größen, die alle auf eine Normkörperoberfläche (KO = Körperoberfläche) standardisiert wurden. Der Umrechnungsfaktor $f = \frac{1,73}{KO\ m^2}$ ergibt sich aus der Idealkörperoberfläche von $1,73\ m^2$.

Übersicht über die errechneten Sekundärparameter.

a.) Berechnung des Harnzeitvolumens (HZV)

$$HZV = \frac{V}{t} \cdot f$$

Dabei bedeutet V = Urintagesvolumen, $f = \frac{1,73}{KO}$

t = 1440 (Zahl der Minuten in 24 Stunden)

$$HZV = \frac{V}{t} \cdot f \quad \left[ml/min/1,73\ m^2\right]$$

b.) Menge der Harnsäureausscheidung (H_{Hsr})

Sie ergibt sich aus dem HZV bei Kenntnis der Harnsäurekonzentration im Urin (U_{Hsr})

$$H_{Hsr} = U_{Hsr} \cdot HZV \left[mg/min/1,73\ m^2\right]$$

c.) Clearance von Kreatinin (C_{kr})

$$C_{Kr} = \frac{U_{Kr}}{P_{Kr}} \cdot HZV \left[ml/min/1,73\ m^2\right]$$

d.) Clearance von Harnsäure (C_{Hsr})

$$C_{Hsr} = \frac{U_{Hsr}}{P_{Hsr}} \cdot HZV \left[ml/min/\ 1,73\ m^2\right]$$

e.) glomeruläre Filtrationsrate der Harnsäure

$$GFR_{Hsr} = C_{Kr} \cdot P_{Hsr} \left[mg/min/1,73\ m^2\right]$$

f.) tubuläre Netto-Harnsäure-Rückresorption

$$Tn = GFR_{Hsr} - H_{Hsr} \left[mg/min/1,73\ m^2\right]$$

$$Tn\ \% = \frac{Tn\ 100}{C_{Kr}} \quad (\%)$$

II. Ergebnisse

1. Werte aus dem Plasma

a.) Harnsäurekonzentration

Die Harnsäurekonzentration schwankte in den 3 Tagen Vorperiode unter Normalkostbedingungen zwischen 5,06 und 5,73 mg % (Mittelwert von 5 Personen), wobei der mittlere Fehler zwischen ± 0,450 und ± 0,766 lag.

Unter purinfreier Ernährung waren fallende Harnsäurekonzentrationen zu beobachten. Am 5. Versuchstag (nach 2 Tagen purinfreier Ernährung) liegt der Mittelwert bei 4,27 mg % (Sx = ± 0,115) und sinkt am Ende der purinfreien Diät (am 12. Versuchstag) auf 3,13 mg % ab. Das bedeutet einen Harnsäureabfall von etwa 45 % gegenüber dem Ausgangswert. Ein Blick auf Abbildung B zeigt, daß die Harnsäurekonzentration in den ersten 5 Tagen der purinfreien Periode steil abfällt (von 5,73 mg % auf 3,36 mg %), und sich dann langsam auf einer bestimmten Höhe einpendelt. Die Werte der Tage 10 und 11 am Ende der purinfreien Periode differieren nur noch geringfügig, 3,13 bzw. 3,14 mg %. Der Eintritt eines Steady-states ist somit am 10. Tag der purinfreien Periode festzustellen. Abbildung B zeigt, daß ab dem 6. Tag dieses Abschnittes die Harnsäurekonzentration bis zum Erreichen eines Steady-states nur noch um 5 % abnimmt. Betrachten wir die Einzelwerte, so sehen wir, daß bei 4 der 5 Versuchspersonen ein Steady-state eintritt. Der mittlere Fehler liegt in der purinfreien Periode deutlich niedriger als unter freigewählter Kost (1. und 2. Versuchstag), er schwankt zwischen Sx = ± 0,112 und Sx = ± 0,132, gegenüber Sx = ± 0,450 und Sx = ± 0,766 bei freigewählter Kost. (Vergleiche Tabelle IV)

Bei der Belastung mit einem Gramm RNS steigt der Plasmaspiegel zunächst ziemlich steil an (die erste

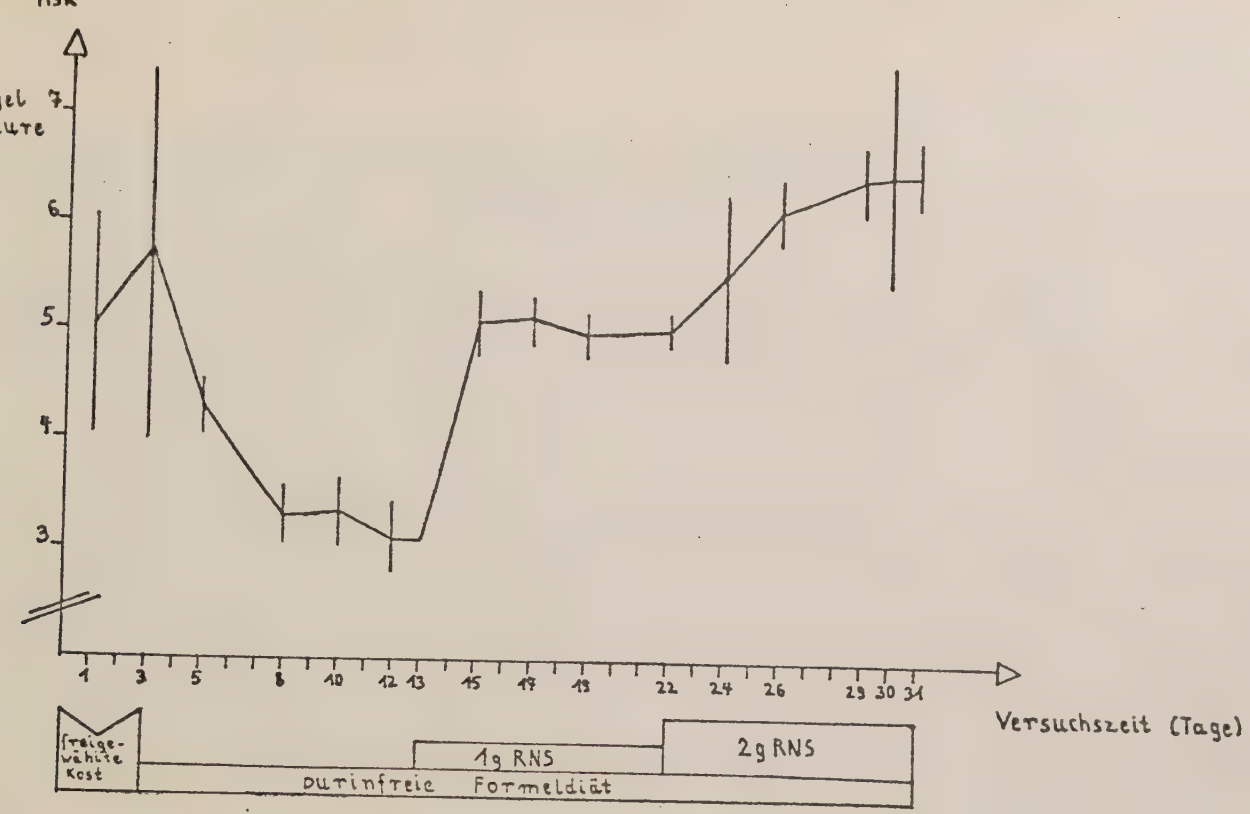


ABBILDUNG B: Verhalten der Plasmaharnsäure (mg%)
Mittelwerte und Standardabweichung (±s) bei 5 Versuchspersonen

Kostform bzw. Basisdiät		freigewählte Kost		FORMELDIÄT												
Zulage		keine		keine					+ 1 g RNS/VP/Tag				+ 2 g RNS/VP/Tag			
Versuchstage		1	3	5	8	10	12	13	15	17	19	22	24	26	29	30	31
Tag der Periode		1	3	3	6	8	10	11	3	5	7	10	3	5	8	9	10
lfd.Nr.	Name																
1	A.G.	6,35	8,20	5,15	4,35	4,35	4,35	3,30	5,60	5,20	5,60	5,45	6,15	6,75	7,65	7,75	7,75
2	J.H.	4,55	5,30	3,85	3,20	3,15	3,20	3,05	5,35	5,30	5,40	5,25	5,95	6,65	7,20	7,40	7,05
3	L.J.	5,90	6,45	5,10	3,90	4,20	3,65	3,75	5,05	6,10	5,05	5,15	5,90	6,25	6,10	5,90	6,15
4	E.K.	4,50	5,10	3,90	2,55	3,05	2,65	3,05	6,05	5,00	4,55	5,00	5,35	6,50	6,20	6,10	6,35
5	D.N.	4,00	3,60	3,35	2,60	2,05	1,90	1,95	4,50	4,10	4,50	4,40	3,55	4,65	5,15	5,25	5,20
1-5	$\bar{x}$	5,06	5,73	4,27	3,32	3,36	3,13	3,14	5,10	5,14	5,02	5,05	5,54	6,15	6,46	6,48	6,50
	$s_{\bar{x}}$	0,450	0,766	0,115	0,112	0,133		0,132	0,120	0,101	0,070	0,056	0,326	0,134	0,139	0,472	0,136

Tabelle IV: Harnsäurespiegel im Plasma (mg %), Einzelwerte (VP 1 - 5), Mittelwerte ($\bar{x}$) und mittlerer Fehler ($s_{\bar{x}}$)

Bestimmung erfolgte am 3. Tag der Belastung) und zwar von 3,14 mg % auf 5,10 mg %, also um 62 %. Ein Steady-state tritt sicher am 19. Versuchstag, das entspricht dem 7. Tag der 1 g RNS-Belastung, auf. Dieses Steady-state liegt wieder durch 2 Messungen gesichert, zwischen 5,02 mg % und 5,05 mg %. Betrachtet man Abbildung B so fällt auf, daß bereits ab 15. Versuchstag (3. Tag der 1 g Stufe) der Harnsäurespiegel sich einpendelte und nicht mehr änderte. Der mittlere Fehler nimmt weiter ab, er liegt zwischen Sx = $\pm$ 0,120 am Anfang der Belastungsstufe und Sx = $\pm$ 0,056 am Ende.

Bei der Belastung mit 2 g RNS ergibt sich, daß der Harnsäurespiegel wesentlich langsamer ansteigt, als während der 1 g Belastungsstufe. Er steigt in den ersten drei Tagen (22. bis 24. Versuchstag) von 5,05 auf 5,54 mg %, (d.h. um 10%); vom 3. bis 5. Tag (24. bis 26. Versuchstag) von 5,54 auf 6,15 mg %, (d.h. um 11 %); und vom 5. bis 8. Tag (26. bis 29. Versuchstag) von 6,15 mg % auf 6,46 mg %, (d.h. um 5 %). Bis zum Auftreten eines Steady-states am 8. Tag der 2 g-Belastung steigt der Harnsäurespiegel um insgesamt 28 %. Nach dem 8. Tag steigt der Plasmaspiegel nur noch sehr geringfügig an. (6,46 → 6,48 → 6,50) Das Auftreten eines Steady-states am 8. Tag wird auch durch die Betrachtung der Einzelwerte bestätigt. Der mittlere Fehler steigt bei der 2 g Belastung an, er schwankt zwischen Sx = $\pm$ 0,472 und Sx = $\pm$ 0,134.

b.) Kreatininkonzentration.

Ein Blick auf die Kreatininkonzentrationen im Plasma zeigt, daß sie mit Werten zwischen 0,8 mg % und 1,6 mg % im Normbereich liegen.
(Vergleiche Tabelle V und Abbildung C)

c.) Harnstoff-N Konzentration

Sowohl Abbildung C als auch Tabelle VI zeigen, daß die von

uns ermittelten Harnstoff-N Konzentrationen (Mittelwert VP 1-5) mit 13,3 - 18,3 mg % alle im Normbereich liegen.

2. Regression und Korrelation zwischen Höhe der RNS-Belastung und dem Anstieg der Harnsäurekonzentration im Plasma.

Zwischen der Höhe der Purin- bzw. Ribonukleinsäurebelastung und dem Anstieg von Plasmaharnsäure besteht eine Beziehung, die sich rechnerisch als Regression bestimmen läßt. (vergl. Franke 1969 [9]).

Die Regressionsberechnungen ergaben, daß die Beziehung zwischen RNS-Belastung und Harnsäureanstieg weitgehend einer linearen Regression folgt, zumindest in den von uns untersuchten Bereichen; jedenfalls ergab sich mittels des Prüfquotienten eine ausreichende Signifikanz für die Korrelation. Die Korrelationsberechnungen zeigen eine weitgehende Abhängigkeit ($r = 0{,}997$) bzw. straffe Korrelation für die Einzelwerte. Bei der Signifikanzberechnung ergibt sich eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0{,}05$ oder weniger als 5 % d.h. das Meßergebnis ist statistisch gesichert. (vergl. Disk. III, 2)

Kostform bzw. Basisdiät		freigewählte Kost						FORMELDIÄT									
Zulage		keine		keine				+ 1 g RNS/VP/Tag				+ 2 g RNS/VP/Tag					
Versuchstage		1	3	5	8	10	12	15	17	19	22	24	26	29	30	31	
Tag der Periode		1	3	3	6	8	10	3	5	7	10	3	5	8	9	10	
lfd.Nr.	Geschlecht																
1	m	1,40	1,15	0,95	1,30	1,50	1,40	1,00	0,80	1,00	0,95	1,00	1,50	1,15	0,80	1,20	
2	w	1,50	1,00	0,80	1,50	1,60	1,20	1,00	0,80	1,00	0,90	1,00	0,90	1,15	1,00	1,00	
3	m	1,60	1,00	0,80	1,60	1,55	1,20	1,00	0,75	1,00	0,80	1,00	0,85	1,10	0,95	1,00	
4	w	1,20	1,20	0,80	1,50	1,45	1,10	1,00	0,80	0,85	0,80	1,00	1,10	1,10	0,80	0,80	
5	w	1,50	1,50	0,80	1,50	1,85	1,15	1,00	0,90	1,05	0,80	1,00	1,10	1,00	0,85	1,00	
1-5	$\bar{x}$	1,44	1,17	0,85	1,48	1,58	1,21	1,00	0,83	1,00	0,89	1,00	1,11	1,11	0,88	1,20	

Tabelle V: Konzentration von Kreatinin im Plasma
Einzelwerte und Mittelwerte ($\bar{x}$ VP 1 - 5)

Kostform bzw. Basisdiät		freigewählte Kost		FORMELDIÄT										
Zulage		keine		keine				+ 1 g RNS/VP/Tag				+ 2 g RNS/VP/Tag				
Versuchstage		1	3	5	8	10	12	15	17	19	22	24	26	29	30	31
Tage der Periode		1	3	3	6	8	10	3	5	7	10	3	5	8	9	10
lfd.Nr.	Geschlecht															
1	m	14,0	16,5	20,0	11,0	17,5	19,0	19,8	23,0	24,0	18,0	24,0	17,0	17,0	16,0	20,0
2	w	11,0	18,0	12,5	21,0	13,0	13,8	13,0	15,0	14,0	14,0	18,0	16,5	13,5	13,0	17,0
3	m	17,5	23,5	20,0	12,0	20,0	20,2	18,0	16,0	19,0	20,5	18,5	19,5	20,0	16,0	17,0
4	w	11,0	15,0	18,5	23,0	15,0	15,8	16,0	14,0	14,0	14,5	17,0	14,5	15,0	13,0	11,0
5	w	13,0	16,0	20,5	20,0	22,0	18,0	11,5	12,5	12,5	14,0	14,0	14,5	14,5	11,5	13,5
1-5	$\bar{x}$	13,3	17,8	18,3	17,4	17,5	17,3	15,7	16,7	16,7	16,2	18,3	16,4	16,0	13,9	15,7

Tabelle VI: Konzentration von Harnstoff-N im Plasma
Einzelwerte (VP 1-5) und Mittelwerte ($\bar{x}$)

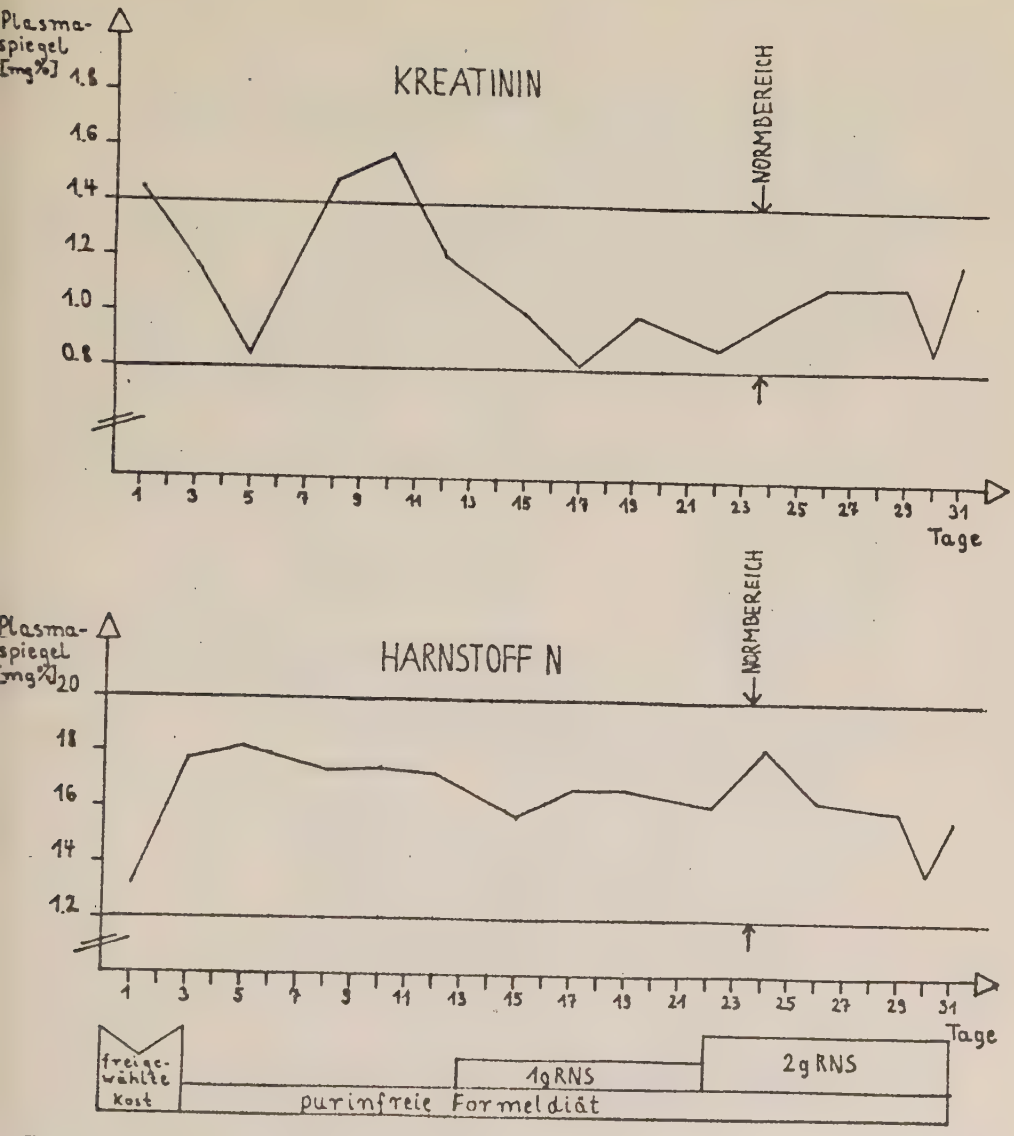


ABBILDUNG C: Verhalten von Kreatinin und Harnstoff N im Plasma. Mittelwerte (n = 5)

Berechnung der Regression und Korrelation zwischen Höhe der RNS-Belastung und Harnsäurespiegel im Plasma

Steady-state erreicht am Versuchstag Nr.	Belastungs-stufe	RNS in g pro VP u. Tag X	Harn-säure-spiegel Y	XY	X^2	Y^2
13	0	0	3,14	0	0	9,86
22	I	1	5,05	5,05	1	25,50
31	II	2	6,50	13,0	4	42,25
S(x,y...)		3	14,69	18,05	5	77,61
$\bar{X}$, $\bar{Y}$,....		1	4,89			
$S(x)....^2$		9	215,80			
$\frac{S(x),(y)^2}{n}$		3	71,93			

I. Berechnung der Regressionsgeraden

a.) $S_x = S(x^2) - \frac{[S(x)]^2}{n}$

$S_x = 2$

b.) $S_{xy} = S(x \cdot y) - \frac{S(x) \cdot S(y)}{n}$

$S_{xy} = 18.05 - 14.69$

$S_{xy} = 3.36$

aus a und b ergibt sich

c.) $b_{yx} = \frac{S_y}{S_x} = \frac{S_{xy}}{S_x}$

$b_{yx} = \frac{3.36}{2}$

$b_{yx} = 1.68$ [Steigungsmaß]

d.) $Y = \bar{Y} + b_{yx}(x - \bar{x}) = a_{yx} + b_{yx} \cdot x$

$Y = 4.89 + 1.68(x - 1)$ $Y = a_{xy}$ fall $x = 0$

$Y = 4.89 - 1.68 = 3.21$ eingesetzt in d ergibt:

$Y = 3.21 + 1.68x$ vergl. Abb. 3

Wertetabelle für die Zeichnung:

$x = 0 \quad Y = 3.21$
$x = 1 \quad Y = 4.89$
$x = 10 \quad Y = 20.01$

mittels dieser Werte ist die Gerade für die Zeichnung definiert.

II. Berechnung der Korrelation

a.) $r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_x \cdot S_y}}$ (Korrelationskoeffizient)

$r^2 = \frac{(S_{xy})^2}{S_x \cdot S_y}$

b.) $S_y = S(y^2) - \frac{[S(y)]^2}{n}$

$S_y = 77.61 - 71.93$

$S_y = 5.68$

c.) S_x aus I, a.) bekannt

d.) S_{xy} aus I, b.) bekannt

in II, a.) eingesetzt

$r^2 = \frac{11.29}{2 \cdot 5.68}$

$r^2 = 0.9938$

$r = \sqrt{r^2} \quad r = 0.996895$

Prüfquotient $\left.\begin{matrix} c \\ \alpha \end{matrix}\right\} = \frac{r}{S_r}$

$S_r = \sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}} \qquad n = 3$ (3 Belastungsstufen)

$S_r = \sqrt{\frac{1-0.9938}{3-2}} = \sqrt{0.0062}$

nach Geigy 1969 10 S. 24 berechnet:

$S_r = 0.07874$

$\left.\begin{matrix} c \\ \alpha \end{matrix}\right\} = \frac{0.996895}{0.07874} \qquad \left.\begin{matrix} c \\ \alpha \end{matrix}\right\} = 12.6$

Da für $r \leq 200$ die Student-Verteilung gilt, wird der ermittelte Prüfquotient in den Tafeln der Studentverteilung nachgeschlagen. (Geigytabellen 1969 [10])

Für $t = 12.6$ und $r = 1$ gilt:

$0.025 < p < 0.050$

Das Meßergebnis ist statistisch signifikant.

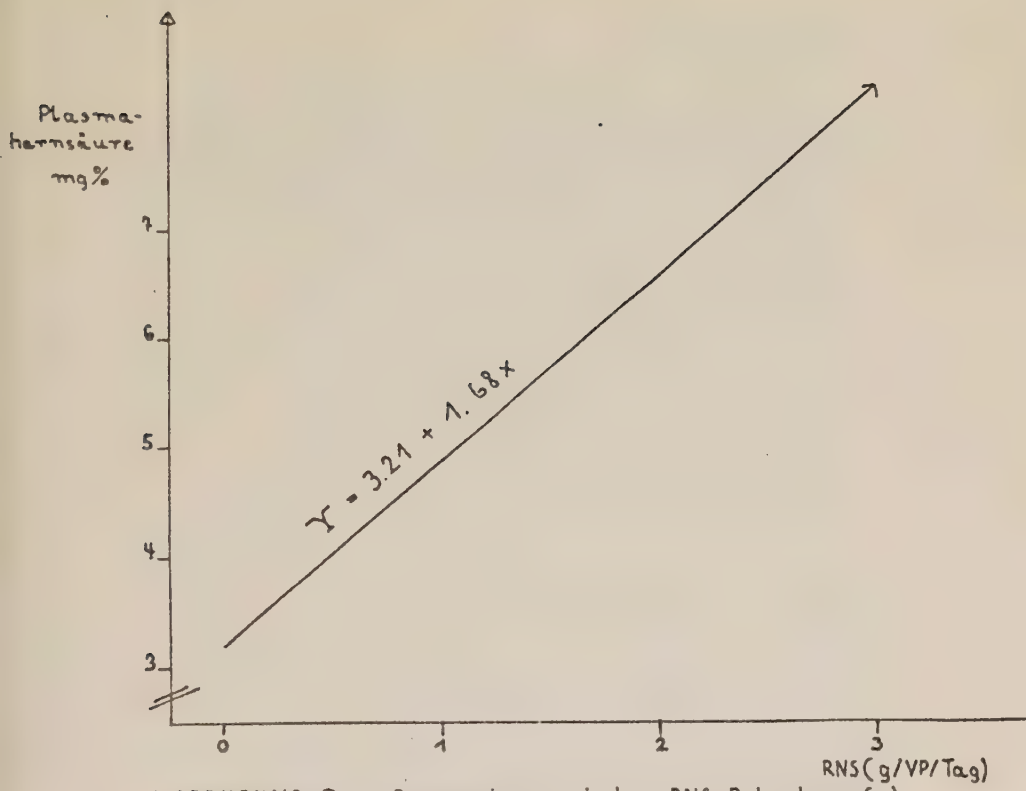


ABBILDUNG D : Regression zwischen RNS-Belastung (g) und Harnsäure im Plasma (mg%).

3. Werte aus dem Urin

Im folgenden wird nur die Tagesausscheidung der Harnsäure betrachtet (H_{Hsr}), die sich aus der Harnsäurekonzentration im Urin und dem Harnzeitvolumen ergibt. $H_{Hsr}=U'_{Hsr}$. HZV [mg/24h]. In den ersten 3 Tagen unter Normalkostbedingungen liegt die Harnsäureausscheidung zwischen 738,8 mg und 795 mg. Unter purinfreier Ernährung ergibt sich (vergleiche Tabelle VII) eine Harnsäureausscheidung, die zwischen 369 mg und 485 mg liegt. Betrachtet man die Einzelwerte unter purinfreier Kost, so fällt auf, daß die Harnsäureausscheidung zwischen den verschiedenen Versuchspersonen nicht stark differiert. Unter der 1 g Belastung ist nur am 13. und 16. Versuchstag (1. und 4. Tag der 1 g Belastung) eine Erhöhung der Harnsäureausscheidung auf 668 und 769 mg zu sehen. Ansonsten steigen die Harnsäureausscheidungsraten erstaunlicherweise nur ganz gering an. Sie liegen im Bereich zwischen 443 und 566 mg/24 h. Vergleicht man jeweils den letzten Wert einer Periode, so findet man unter der 1 g Belastung eine Zunahme der Ausscheidungsrate nur um 13 %. Verschiedene Einzelwerte dagegen sind häufig niedriger als unter purinfreier Ernährung.
Auch in der 2 g Belastung ist keine Steigerung zu beobachten, läßt man die beiden letzten Werte unberücksichtigt. (695 und 879 mg/24 h) Ein Blick auf Abb. E und Tabelle VII zeigt, daß während der weiteren Versuchsdauer, also unter 1 g und 2g RNS-Zulage keine gesetzesmäßige Erhöhung der Harnsäureausscheidung zu beobachten ist.
Betrachtet man die Konzentrationen der Harnsäure im Urin, so findet man auch hier keine Abhängigkeit von der RNS-Belastung. (Vergleiche Tabelle VIII)
Ein Vergleich mit den Untersuchsergebnissen anderer

Arbeitsgruppen zeigt, daß unsere Urinwerte unter Belastung wesentlich geringere Anstiegsraten aufweisen. Wir werden auf den methodischen Fehler, der diese Veränderung verursachte, näher in der Diskussion eingehen. (Kap. III, 4)

Basis-diät	Zulage	Versuchs-tag	1	2	3	4	5	$\bar{X}$
freigewählte Kost	keine	1	744.3	984.8	803.6	720.4	692.2	795.0
		2	733.3	906.5	672.6	751.0	630.6	738.8
Formeldiät →	keine	3	665.3	492.5	477.8	394.1	400.0	485.9
		4	495.1	411.2	369.9	446.3	360.0	405.9
		5	508.3	411.2	423.8	482.7	374.4	446.1
		6	490.4	410.4	463.4	457.5	391.8	442.7
		7	325.2	415.6	421.1	295.2	407.3	372.9
		8	398.0	443.0	412.7	526.6	520.0	460.0
		9	480.5	499.6	532.0	393.0	425.8	466.2
		10	326.0	406.4	360.7	330.4	422.0	369.1
		11	495.2	518.0	401.4	310.8	487.0	442.5
		12	383.0	583.8	351.5	531.5	489.3	467.8
	1g RNS	13	1001.4	897.5	708.0	541.9	697.9	769.3
		14	570.7	516.4	365.7	803.6	401.1	563.8
		15	561.0	573.0	561.0	382.1	756.3	566.7
		16	754.5	751.2	677.0	537.5	620.9	668.2
		17	481.0	535.3	371.0	455.9	477.0	463.9
		18	573.8	557.3	465.9	433.3	396.4	485.3
		19	282.0	684.2	332.6	470.0	449.0	443.6
		20	431.8	401.2	360.8	476.7	393.6	479.2
		21	692.2	458.4	379.5	552.6	458.6	508.3
		22	539.6	670.6	308.0	739.6	787.9	609.1
purinfreie →	2g RNS	23	394.4	419.7	337.1	633.6	912.1	539.4
		24	331.6	875.0	180.5	566.6	489.6	488.7
		25	439.0	402.7	367.2	572.3	638.6	483.9
		26	342.9	373.8	269.9	502.5	605.9	424.4
		27	843.9	366.4	302.7	302.8	662.8	495.7
		28	571.2	849.2	462.0	291.5	579.9	550.8
		29	560.2	931.9	590.4	1243.1	1070.9	879.3
		30	489.8	779.2	566.4	642.5	999.1	695.4

Tabelle VII: Harnsäureausscheidung im Urin mg/24h
Einzelwerte und Mittelwerte (n=5). Die Werte sind durch quantitative Ausfällungen der Harnsäure durch HCL-Zugabe völlig verfälscht.

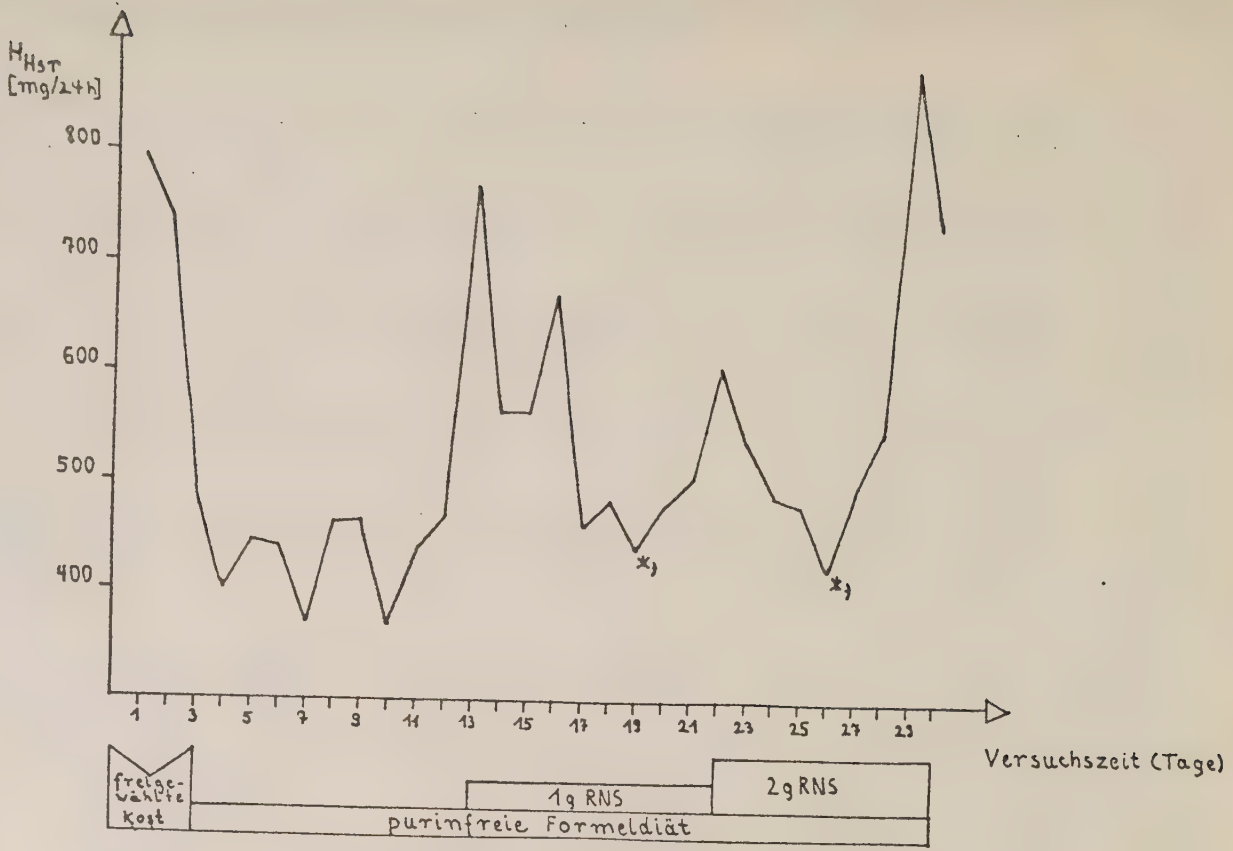


ABBILDUNG E: Harnsäureausscheidung in 24 Stunden
Mittelwerte (1-5). *) das starke Abfallen der Harnsäureausscheidung ist auf methodische Fehler zurückzuführen. (Vergleiche Diskussion)

Versuchspersonen			1	2	3	4	5	$\bar{x}$
Basis diät	Zulage	Versuchstag						
freigewählte Kost	keine	1	87.0	111.6	105.6	130.5	68.4	100.6
		2	87.3	123.9	162.0	93.3	84.3	110.1
Purinfreie Formeldiät	keine	3	79.2	85.2	108.3	81.6	60.6	82.9
		4	54.3	72.6	79.2	124.8	60.6	78.3
		5	58.2	83.1	108.9	95.4	54.9	80.1
		6	42.0	96.6	74.4	102.0	67.2	76.4
		7	56.1	81.9	79.8	82.8	72.6	74.6
		8	50.4	89.4	67.2	111.7	60.6	75.8
		9	27.9	132.3	69.9	106.8	75.9	82.6
		10	33.0	84.0	83.4	75.6	55.2	66.4
		11	45.0	74.4	51.0	54.6	71.4	59.3
		12	114.0	127.8	126.9	107.1	111.3	117.4
	1g RNS	13	30.6	71.7	90.3	58.5	105.9	71.4
		14	40.2	48.6	69.3	93.2	81.9	66.6
		15	56.1	74.7	99.0	33.9	167.7	86.5
		16	68.1	98.7	70.5	58.8	76.8	74.6
		17	56.7	56.7	40.8	74.1	83.5	63.4
		18	62.1	73.8	57.0	41.4	79.2	63.1
		19	30.0	75.3	43.2	33.9	72.9	51.6
		20	43.2	100.8	38.7	29.4	60.4	52.5
		21	32.7	55.5	61.8	52.8	76.5	55.9
		22	63.6	69.3	55.2	66.3	76.2	66.1
	2g RNS	23	42.3	45.6	34.8	54.0	91.2	53.6
		24	30.6	96.3	21.3	51.3	64.5	52.8
		25	39.0	43.2	47.7	51.3	64.5	53.1
		26	52.4	52.8	31.2	50.4	90.3	51.4
		27	62.4	39.3	43.2	25.8	92.7	52.7
		28	30.9	86.7	62.1	21.3	106.5	61.5
		29	28.5	121.5	71.1	168.9	165.0	111.0
		30	50.7	106.5	87.3	87.3	156.6	97.7

Tabelle VIII: Konzentration der Harnsäure im Urin (mg%)
Einzelwerte (VP 1-5) und Mittelwert ($\bar{x}$)

III. Diskussion

1. Verhalten der Harnsäure im Plasma

a.) Vorbemerkung

Harnsäure ist in den physiologischen pH-Bereichen des menschlichen Körpers eine einwertige Säure mit einem pk von 5,8. Deshalb liegt Harnsäure im Serum (pH = 7,4) vorwiegend als Urat vor. Aus dem Löslichkeitsprodukt wird die Grenze der Löslichkeit der Harnsäure im Plasma zu 6,5 mg % berechnet. (PETERS UND VAN SLYKE 1946 [30]) Dieses Ergebnis stimmt mit den Beobachtungen über die obere Normgrenze der Harnsäure für die Klinik gut überein. Die meisten Autoren diagnostizieren oberhalb dieses Wertes eine Hyperurichämie und bei entsprechender Anamnese eine Gicht, (z.B. GUTMAN and YÜ, 1957 [15] , s. 829/830). Dieser sieht als obere Normgrenze 6,5 mg % an. Für die deutsche Bevölkerung gilt nach ZÖLLNER (1963 [42]) als obere Normgrenze für Männer 6,8 mg % und für Frauen 6,35 mg %; daraus ergibt sich ebenfalls ein Mittelwert für beide Geschlechter von 6,5 mg %. Jedoch gibt es neuerdings Hinweise dafür, daß sich die Mittelwerte und die obere Normgrenze in den letzten 10 Jahren nach oben verschoben haben, die Mittelwerte für Männer z.B. um etwa 1,5 mg %.

b.) Harnsäurespiegel bei freigewählter Kost.

Betrachten wir unsere Normalwerte, so sehen wir, daß die Mittelwerte zwischen 5,06 und 5,73 mg % liegen, mit einem mittleren Fehler zwischen $\pm$ 0,450 und $\pm$ 0,766. Mit Ausnahme eines einzigen Wertes der Versuchsperson 1 mit einem Harnsäurespiegel von 8,2 mg % liegen sämtliche Werte unter der Normgrenze von 6,5 mg %. Der vereinzelt hohe Wert ist wahrscheinlich auf eine purinreiche Nahrung bzw. Alkoholzufuhr zurückzuführen. (vergl. LIEBER et al, 1962 [22]).

SEEGMILLER 1961 [35] fand während einer fünftägigen Periode mit freigewählter Kost einen Mittelwert von 5,32 mg % (VP = 1 - 20) mit einem mittleren Fehler von ± 0,930. Unsere Werte liegen im gleichen Bereich.

c.) Vergleich unserer Werte mit anderen Autoren unter purinfreier Ernährung.

Die im folgenden genannten Autoren, außer WASLIEN (1968 [40]), der den Versuchspersonen eine "basic formula diet" verordnete, führten die Versuche unter Standarddiätbedingungen durch.
SEEGMILLER (1961 [35]) gab eine 2600 kcal-Standarddiät mit einem Purin-N-Gehalt von 24,1 mg pro Tag.
Der Eiweißgehalt der Diät von Waslien entsprach dem des Standarddiätversuchs unserer Arbeitsgruppe (vergleiche GRIEBSCH 1970 [11]) mit 75 g pro Tag. Bei den anderen zitierten Autoren liegen genaue Angaben über den Eiweißgehalt nicht vor.

Autor		Basisdiät	Eiweiß gehalt	Purin gehalt	Usr mg %
NUGENT et al	1959 [28]	"low purine food"	keine Angaben	wenig	4,88
SEEGMILLER et al	1961 [35]	Standarddiät	70 g	frei	4,80
WASLIEN et al	1968 [40]	Formeldiät	75 g	frei	4,86 *
GRÖBNER	1970 [13]	Standarddiät	80 g	arm	3,86
GRIEBSCH, ZÖLLNER	1970 [11]	Standarddiät	80 g	arm	4,34
eigene Ergebnisse		Formeldiät	100 g	frei	3,13

Tabelle IX: Plasmaharnsäure bei purinfreier Ernährung ohne RNS-Zulage.
(WASLIEN: * Belastung dauerte nur 3 - 4 Tage)

Es zeigt sich, daß mit Ausnahme des Formeldiätsversuches von WASLIEN, der allerdings nur Perioden von 3 - 5 Tage umfaßte alle anderen Autoren mit Standarddiät arbeiteten. Sie erreichten unsere niedrigen Harnsäurespiegel, die unter Formeldiät gefunden wurden, nicht. In der Veröffentlichung von WASLIEN (1968 [40]) sind genauere Angaben über die Harnsäurespiegel der Einzelpersonen nicht veröffentlicht. Ein Blick auf unsere Plasmaspiegel zeigt, daß ein echtes Steady-state erst nach 10 Tagen auftritt. (Vergleiche Tabelle IV) S.28

d.) Plasmaharnsäure unter 1 g RNS-Belastung
Vergleich mit anderen Autoren:

Unter der RNS-Belastung von einem Gramm kommt es in unserem Versuch zu einer Erhöhung der Harnsäurespiegel um 62 %. Das Steady-state stellt sich bei Werten von 5,05 mg % ein. Ein Vergleich der beiden Diätformen, Formeldiät (in der vorliegenden Arbeit) und Standarddiät (vergl. Diss. Jakob [19]), zeigt etwas niedrigere Harnsäurespiegel unter Formeldiät.
Sie betragen 5,43 mg % unter Standarddiät- und 5,05 mg % unter Formeldiätbedingungen.

e.) Plasmaharnsäure unter 2 g RNS-Belastung
Vergleich mit anderen Autoren.

In der 2 g Belastung ist ein langsames Ansteigen des Harnsäurespiegels über 8 Tage zu beobachten. Die Plasmaharnsäure steigt gegenüber dem letzten Wert der 1 g Stufe nur noch um insgesamt 28 %. Das Steady-state ist erst am 8. Versuchstag festzustellen.
Ein Vergleich mit WASLIEN 1968 [40] und GRIEBSCH 1970 [11] zeigt, daß wir auch in der 2 g Belastung in der Größenordnung der bisher bestimmten Werte liegen, wie auch folgende Übersicht zeigt:

Belastung	2 g RNS
WASLIEN et al 1968 [40]	6,0 mg % Formeldiät
GRIEBSCH et al 1970 [11]	5,98 mg % Standarddiät
eigene Ergebnisse	6,5 mg % Formeldiät

Über 1 und 2 g Belastungen liegt noch sehr wenig vergleichbares Material vor, während z.B. mit höheren RNS-Zulagen (4 und 8 g) schon eine größere Reihe von Untersuchungen stattgefunden hat. (NUGENT et al 1959 [28] , SEEGMILLER 1962 [34] , BONNER 1962 [5] , NUGENT 1965 [26] , WASLIEN et al [1968 [40] , GRÖBNER 1970 [13]).

Aus den darin angegebenen Werten und Regressionen lassen sich jedoch indirekt die zu erwartenden Spiegel bei 2 g RNS berechnen.

Autor	Regressions-gleichung	berechnete Spiegel bei 2 g
WASLIEN 1969 40	$Y = 4{,}84 + 0{,}65\ x$	6,14 mg %
WASLIEN 1970 41	$Y = 5{,}30 + 0{,}70\ x$	6,70 mg %
GRIEBSCH 1970 12	$Y = 3{,}28 + 0{,}90\ x$	5,05 mg %
GRÖBNER 1970 13	$Y = 3{,}86 + 0{,}78\ x$	5,42 mg %
GRIEBSCH 1970 11	$Y = 4{,}69 + 0{,}73\ x$	6,15 mg %
eigene Ergebnisse		6,50 mg % gemessen

Tabelle X: Vergleich des gemessenen Wertes für Plasmaharnsäure bei 2 g RNS-Belastung mit den errechneten Spiegeln anderer Autoren aus den dort angegebenen Regressionen.

Aus dieser Tabelle ist deutlich zu erkennen, daß schon RNS-Zulagen von 2 - 3 g/tag zu Plasmaharnsäurespiegeln in den Bereich der Hyperurikämie führen (über 6,5 mg %).
3 g RNS sind beispielsweise enthalten in 35 g Bries (Thymus), in 100 g Leber, in 150 g Niere oder Gehirn und in 100 g Anchovis oder 100 g Ölsardinen (nach Zöllner 1960 [43]).

f.) Standardabweichungen bei verschiedenen RNS-Zulagen (0 g, 1 g, 2 g) bei Formel- und Standarddiät.

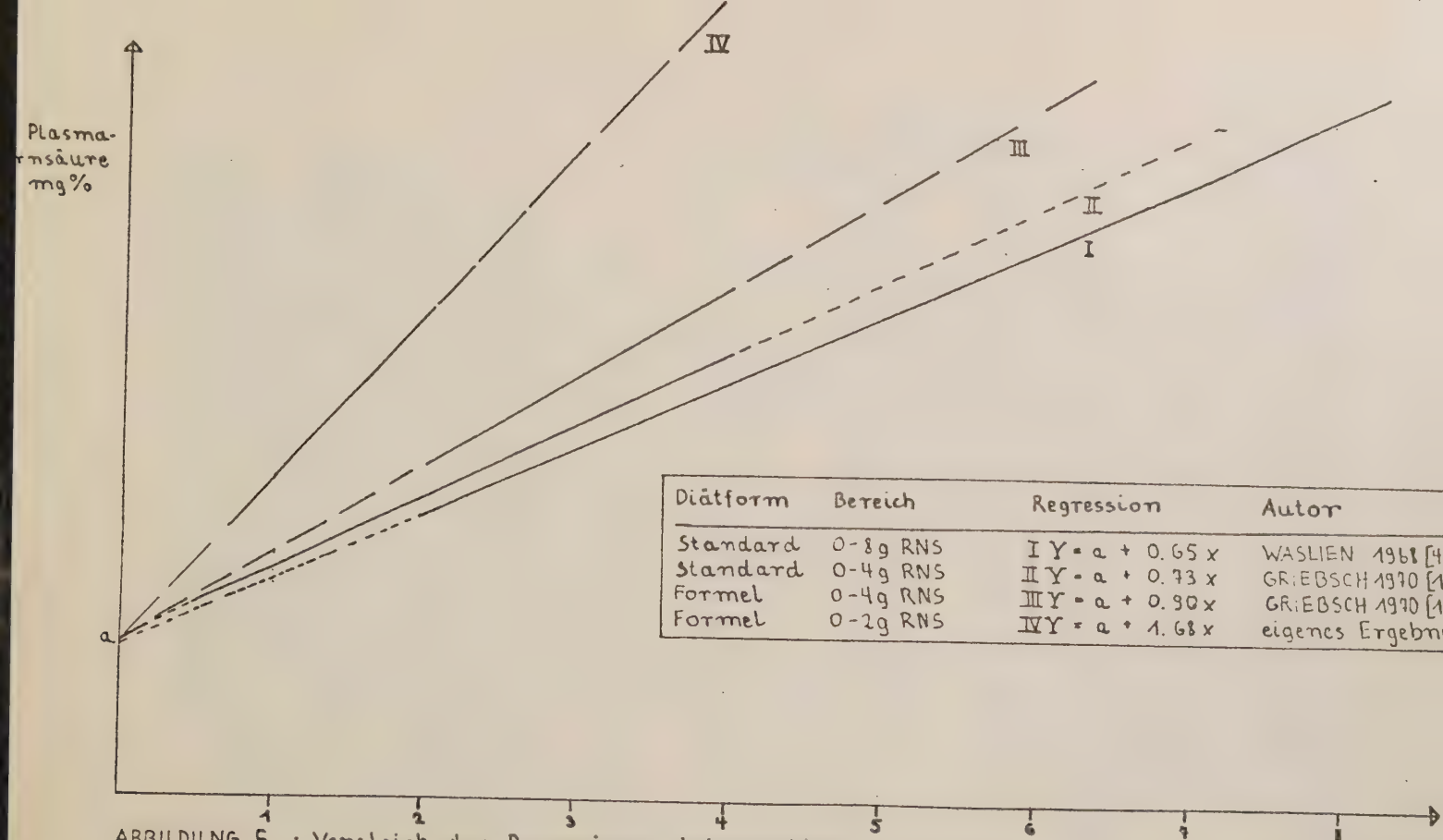
Unter den Bedingungen einer Formeldiät ist, wie ein Blick auf Tabelle XI zeigt, die Standardabweichung deutlich geringer. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, daß in der Formeldiät, im Gegensatz zur Standarddiät, jede quantitativ nicht erfaßbare Purinzufuhr mit der Basisdiät ausgeschlossen ist.

Kostform bzw. Basisdiät	freigewählte Kost		PURINFREIE FORMELDIÄT												
Zulage	keine		keine				+ 1 g RNS/VP/Tag				+ 2 g RNS/VP/Tag				
Versuchstage →	1	3	5	8	10	12	15	17	19	22	24	26	29	30	31
Tag der Periode →	1	3	3	6	8	10	3	5	7	10	3	5	8	9	10
$\Sigma(x)$ = Summe der Einzelwerte	25,30	28,65	21,35	16,60	16,80	15,75	23,55	25,70	25,10	25,25	27,70	30,75	32,30	32,40	32,50
$\bar{x} = \frac{\Sigma(x)}{n}$ arithmetisches Mittel	5,06	5,73	4,27	3,32	3,36	3,15	4,71	5,14	5,02	5,05	5,54	6,15	6,46	6,48	6,50
s = Standardabweichung	±1,008	±1,713	±0,256	±0,251	±0,298	±0,296	±0,270	±0,226	±0,156	±0,126	±0,723	±0,300	±0,311	±1,055	±0,30
$s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler	±0,450	±0,766	±0,115	±0,112	±0,133	±0,132	±0,120	±0,101	±0,070	±0,056	±0,326	±0,134	±0,139	±0,472	±0,13

Tabelle XIa: Summe der Einzelwerte ($\Sigma(x)$), arithmetisches Mittel ($\bar{x}$), Standardabweichung (s) und mittlerer Fehler ($s_{\bar{x}}$) der Harnsäureplasmaspiegel bei Versuchsperson 1-5

Kostform bzw. Basisdiät	freigewählte Kost	FORMELDIÄT bzw. STANDARDDIÄT												
Zulage	keine	keine				+ 1g RNS				+ 2g RNS				
Versuchstage ⟶ der Formeldiät	1	3	5	8	10	12	15	17	19	22	24	26	29	30	31
Versuchstage ⟶ der Standarddiät	1		3	5	7		21	23	25		16	18			
Plasmaharnsäure-spiegel der Formeldiät	5.06	5.73	4.27	3.32	3.36	3.13	5.10	5.14	5.02	5.05	5.54	6.15	6.46	6.41	6.50
Plasmaharnsäure-spiegel der Standarddiät	4.41		4.49	4.53	4.34		6.40	5.40	5.43		6.46	5.98			
Standardabweichung Formeldiät	1.008	1.913	0.256	0.251	0.298	0.296	0.270	0.226	0.156	0.126	0.729	0.300	0.311	1.055	0.304
Standardabweichung Standarddiät	1.186		0.725	0.809	1.524		0.762	0.797	0.778		1.480	1.411			

Tabelle XI b: Standardabweichungen bei verschiedenen RNS-Zulagen unter Formel- und Standarddiät



Diätform	Bereich	Regression	Autor
Standard	0-8g RNS	I Y = a + 0.65 x	WASLIEN 1968 [4
Standard	0-4g RNS	II Y = a + 0.73 x	GRIEBSCH 1970 [1
Formel	0-4g RNS	III Y = a + 0.90 x	GRIEBSCH 1970 [1
Formel	0-2g RNS	IV Y = a + 1.68 x	eigenes Ergebn

ABBILDUNG F : Vergleich der Regressionen bei verschiedenen Autoren. Unter Vernachlässigung des Ausgangswerts (a) zeigt das Steigungsmaß umso kleinere Werte, je höher die Belastungsbreite ist. (s. Tabelle XII).

2.) Vergleich der Regression und Korrelation zwischen RNS-Zugabe und Plasmaharnsäurespiegel mit der Literatur.

d.) Die Regression und Korrelation für unseren Versuch ergab eine enge Beziehung zwischen RNS-Belastung und Harnsäureanstieg im Plasma. (vergleiche Kap.II, 2) Der Plasmaspiegel steigt pro Gramm Zulage um 1,68 mg %. (Y = 3,21 + 1,68 x) Ein Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren zeigt,daß pro Gramm RNS-Zulage unsere Plasmaspiegel mehr als doppelt so hoch steigen.

Autor	Jahr	Diät	Purin-gehalt	RNS-Zulage g/tag	Regression
WASLIEN et al 40	1968	Formeld.	frei	2 4 8	Y = a+0,65 x
GRIEBSCH, ZÖLLNER 11	1970	Standard.	purin-arm	4 2 1 1/2	Y = a+0,73 x
GRIEBSCH ZÖLLNER 12	1970	Formeld.	frei	2 4	Y = a+0,90 x
eigenes Ergebnis	1970	Formeld.	frei	1 2	Y = a+1,68 x

Tabelle XII: Vergleich der Regressionen bei verschiedenen Autoren. Unter Vernachlässigung des Ausgangswerts (a) zeigt das Steigungsmaß bzw. die Zuwachsrate umso kleinere Werte, je höher die Belastungsbreite ist. Dies weist auf eine exponentielle (parabolische) Funktion hin.

Berechnung als exponentielle (parabolische) Funktion.

Betrachtet man Tabelle XII und Abbildung F, so fällt auf, daß der Neigungswinkel der Geraden bei höheren Belastungsstufen

flacher wird. Dies spricht dafür, daß die ermittelte lineare Regression nur für die jeweiligen Bereiche gilt, für die sie bestimmt wurde, daß die Beziehung über weite Bereiche hinweg jedoch einer Parabel folgt. Unter Heranziehung der Regression von WASLIEN 1968 [40] haben wir nach der allgemeinen Formel $y = ax^2 + bx + d$ und Verwendung der Punkte P_1 P_3 P_4 (siehe Abb.6) folgende Parabel errechnet:

Ableitung der Parabel:

I. $y = ax^2 + bx + d$

Die Punkte P_1, P_3, P_4 (siehe Abb. 6) lassen sich aus den beiden gegebenen Regressionen bestimmen.

$Y = 4{,}84 + 0{,}65\ x$ (WASLIEN 1968 40)
$Y = 3{,}21 + 1{,}68\ x$ (eigenes Ergebnis)

P_1: $x = 0$ $y = 3{,}21$ (aus $Y = 3{,}21 + 1{,}68\ x$)
P_3: $x = 4$ $y = 7{,}44$ (aus $Y = 4{,}84 + 0{,}65\ x$)
P_4: $x = 8$ $y = 10{,}04$ (aus $Y = 4{,}84 + 0{,}65\ x$)

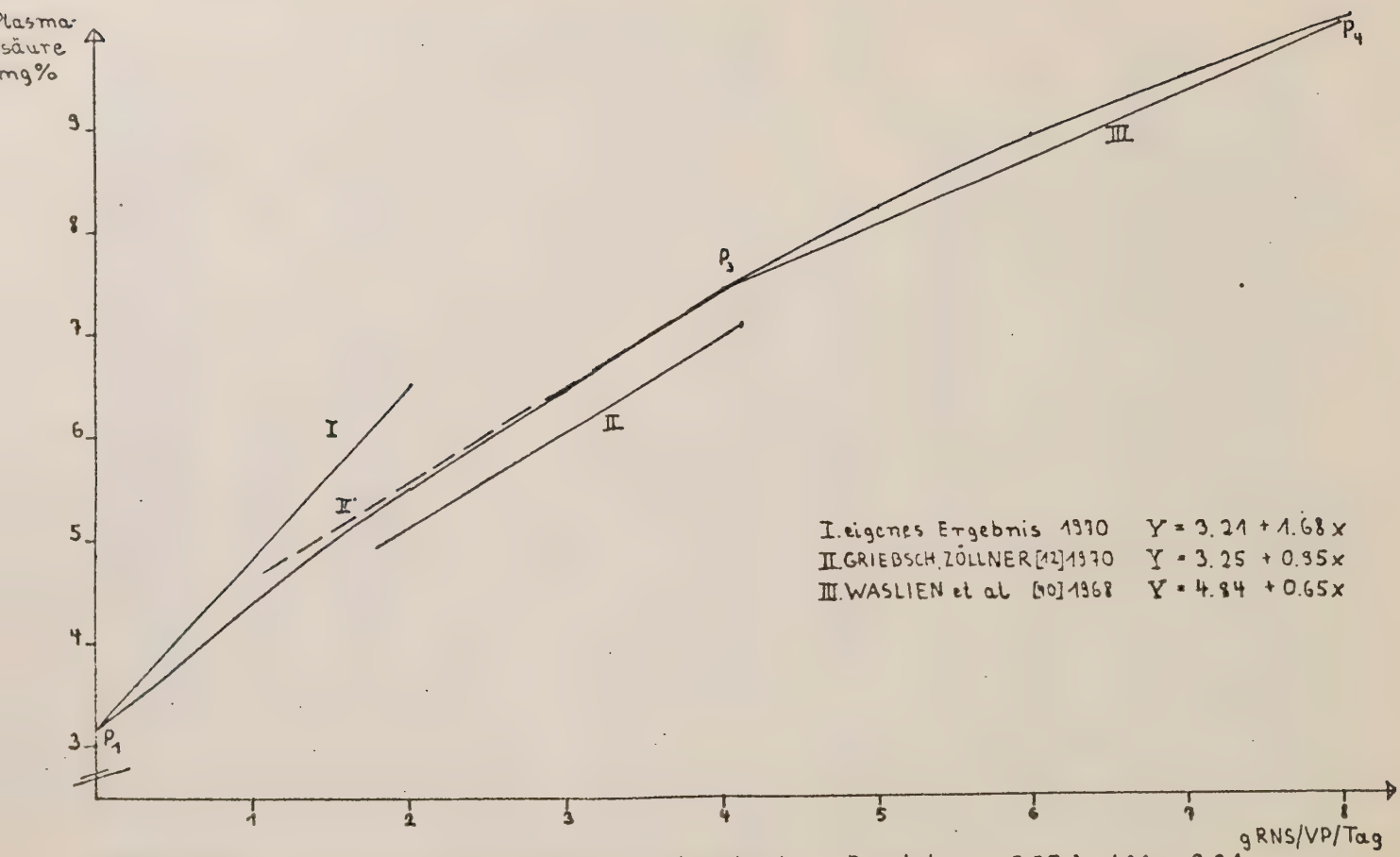
P_1 in I eingesetzt: $d = 3{,}21$
P_3 in I eingesetzt: II: $7{,}44 = 16\ a + 4\ b + 3{,}21 \cdot 2$
P_4 in I eingesetzt: III: $10{,}04 = 64\ a + 8\ b + 3{,}21$
II - III: $4{,}84 = -32\ a + 3{,}21$
$a = -0{,}05$
a in II eingesetzt: II: $7{,}44 = -0{,}8 + 4\ b + 3{,}21$
$b = 1{,}26$

Daraus ergibt sich folgende exponentielle (parabolische) Funktion: $Y = 3{,}21 + 1{,}26\ x - 0{,}05\ x^2$

demgegenüber
unsere lineare $Y = 3{,}21 + 1{,}68\ x$

Regression:

Die beiden Regressionen unterscheiden sich nur durch das Glied $- 0{,}05\ x^2$, welches die Krümmung der Parabel angibt.



I. eigenes Ergebnis 1970 $Y = 3.21 + 1.68x$
II. GRIEBSCH, ZÖLLNER [12] 1970 $Y = 3.25 + 0.95x$
III. WASLIEN et al [90] 1968 $Y = 4.84 + 0.65x$

ABBILDUNG 6 : Versuch der Zeichnung der berechneten Parabel $y = -0.05x^2 + 1.26x + 3.21$ aus den Punkten $P_1; P_3; P_4$.

Das Steigungsmaß der linearen Regression ist mit 1,68 höher als das der Parabel mit 1,26, weil bei der Parabel (unter Einbeziehung der Werte von WASLIEN) auch der flacher verlaufende Kurvenanteil mit eingeht. Für den beobachteten Bereich (0 - 1 - 2 g RNS) scheint es zulässig, die lineare Funktion statt der exponentiellen zugrundezulegen. Zur Überprüfung dieser Parabel zogen wir die Regression von GRIEBSCH und ZÖLLNER 1970 [12] herbei. Der Neigungswinkel dieser Geraden tangiert die Parabel, wenn wir die Gerade durch P_3 verschieben. (Abb. G) Dies scheint zulässig, da Ausgangswert und absolute Höhe der Regressionsgeraden abhängig ist von der Dauer des Versuches, Gewicht, Geschlecht, Größe und eventuell auch von der Zahl Versuchspersonen. Will man zur Überprüfung der Parabel solche Regressionsgeraden heranziehen, so ist für diese Betrachtungsweise vorallem das Steigungsmaß (b_{yx}) und nicht die absolute Höhe von Bedeutung.
Es zeigt sich, daß die Regressionsgerade für den Bereich 2 und 4 g die Parabel in diesem Bereich genau tangiert.

β. Auswirkungen anderer purinhaltiger Substanzen auf den Harnsäurespiegel.

Auch über andere purinhaltige Substanzen bzw. Harnsäurevorläufer liegen Untersuchungen vor. Nachdem NUGENT 1959 28 schon einmal eine einzelne Versuchsperson mit DNS belastet hatte und keinen von der RNS abweichenden Wert fand (7,1 mg % gegenüber 7,5 mg %), geht aus neueren Untersuchungen (GRIEBSCH, ZÖLLNER 1970 [12]) hervor, daß gleich große Mengen von DNS nur zu halb so hohen Harnsäurespiegeln führt.
So steht einem Steigungsmaß von 0,8 mg % je g RNS pro 70 kg KG und Tag nur ein halb so hohes Steigungsmaß von 0,4 mg % bei der DNS gegenüber. (Y = 3,06 + 0,4 x g DNS/70 kg KG) Schließlich berichtet CALLOWAY aus dem Arbeitskreis WASLIEN 1970 [41] , daß sich bei

Belastung mit Algen praktisch die gleichen Steigerungsraten wie für Hefe RNS ergeben hätten. Die nach ihren Angaben für Algen gültigen Regressionen nennen ein Steigungsmaß von 0,7 je g zugeführter RNS aus Algen. Betrachtet man das Steigungsmaß bei DNS-Belastung, so zeichnet sich die denkbare Möglichkeit ab, daß die Herkunft der Purine eine unterschiedliche Resorption und damit Auswirkung bedingen könnte. Zur Beurteilung dieses Gesichtspunktes müßten allerdings die Regressionen einheitlich auf Purin N umgerechnet werden, wozu die und zur Verfügung stehenden Daten nicht ausreichen.

3. Verhalten der Harnsäure im Urin

a.) Vorbemerkung

Harnsäure ist eine in den physiologischen pH-Bereichen des menschlichen Körpers einwertige Säure mit einem pk von 5,8. Dadurch schwankt im Harn die Verteilung zwischen dissoziierter und undissoziierter Form entsprechend dem pH.
Da das gesamte Plasmaurat ultrafiltrierbar ist, muß man annehmen, daß die Harnsäurekonzentration im Primärfiltrat der im Plasma entspricht. Die filtrierte Harnsäuremenge würde demnach bei einer Plasmaharnsäure von 5 mg % und einer Inulinclearance von 120 ml 6 mg betragen. Da weniger ausgeschieden wird, muß ein wesentlischer Teil rückresorbiert werden. Die klassischen Arbeiten von BROCHNER-MORTENSEN 1937 [6] zeigen, daß bei Normalpersonen die Harnsäureausscheidung nach Harnsäurebelastung zunimmt.
NUGENT und TYLER stellten 1959 [28] fest, daß bei mehrtägiger RNS-Zufuhr entsprechend dem Anstieg der Plasmaharnsäure die Harnsäureausscheidung und auch die Harnsäureclearance zunimmt. Es ergab sich, (ZÖLLNER 1960 [45] , NUGENT und TYLER 1959 [28] , ZÖLLNER et al 1970 [47]) daß die Harnsäureclearance bei vergleichbarer Plasmaharnsäure von Normalpersonen höher ist als bei Gichtigern. Wird die Nahrungszufuhr bei konstanter Eiweißzufuhr purinfrei gehalten, so entsteht eine minimale Harnsäuresynthese, (ZÖLLNER 1961 [46]) die sogenannte endogene Uratquote.

b.) Vergleich unserer Harnsäureausscheidung unter purinfreier Ernährung mit der Literatur.

Autor			Basisdiät	Ausscheidung (Hsr)
SEEGMILLER et al	1961	35	standard purine-free d.	433 mg/24h
SEEGMILLER et al	1962	34	standard purine-free d.	469 mg/24h
NUGENT et al	1959	28	low purine food	487 mg/24h
WASLIEN et al	1968	40	Formeldiät	373 mg/24h
GRÖBNER	1970	13	fast purinfreie ST.D.	362 mg/24h
GRIEBSCH,ZÖLLNER	1979	11	purinarme Standarddiät	593 mg/24h
eigene Ergebnisse			Formeldiät	467 mg/24h

Tabelle XIII: Vergleich der Harnsäureausscheidung

Vergleicht man unsere Werte (369 - 485 mg/24h) mit den Ergebnissen anderer Autoren, die zwischen 362 und 513 mg/24h liegen, so zeigt sich eine gute Übereinstimmung mit den Angaben der Literatur. Zu erwähnen ist vielleicht noch, daß wir in den ersten 10 Tagen noch kein HCL zur Ansäuerung des Urins verwendeten. (siehe Kapitel III, 4)

c.) Vergleich der Harnsäureclearance und der Harnsäureausscheidung unter RNS-Belastung.
Sowohl in der 1g als auch in der 2g Belastung ist der zu erwartende Anstieg der Harnsäurekonzentration nicht zu beobachten. (vergl. Tabelle VIII S. 41)
Die Clearancewerte, die in der Nullbelastung noch in Übereinstimmung mit der Literatur sind (5,6 - 10,4 ml/min) fallen unter beiden Belastungsstufen eher noch etwas ab. (vergl.Tabelle XV)

	Kostform bzw. Basisdiät		freigewählte Kost	FORMELDIÄT												
	Zulage		keine	keine					+1g RNS/VP/Tag				+2g RNS/VP/Tag			
	Versuchstage →		1	3	5	8	10	12	13	15	17	19	22	23	27	29
	Tag der Periode →		1	1	3	6	8	10	1	3	5	7	1	2	6	8
1	$H_{Hsr} = U_{Hsr} \cdot V$	mg/24h	795.0	485.9	446.1	460.1	369.1	467.8	769.3	566.7	463.9	443.6	609.1	539.4	495.7	879.3
2	$H_{Hsr} = U_{Hsr} \cdot HZV$	mg/min	0.552	0.337	0.310	0.320	0.256	0.325	0.534	0.390	0.322	0.308 (!)	0.423	0.375	0.344 (!)	0.610
3	$C_{Hsr} = \frac{U_{Hsr}}{P_{Hsr}} \cdot HZV$	ml/min	10.81	5.90	7.25	9.62	7.62	10.38	17.01	7.70	6.34	6.13 (!)	8.37	7.10	5.46 (!)	9.44
4	$C_{Kr} = \frac{U_{Kr}}{P_{Kr}} \cdot HZV$	ml/min	64.44	73.40	108.70	64.02	57.73	79.00	78.82	85.86	124.8	107.24	116.97	98.95	93.70	96.21
5	$GFR_{Hsr} = C_{Kr} \; P_{Hsr}$	mg/min	3.260	4.550	4.642	2.026	1.940	2.131	2.475	4.379	6.415	5.415	5.907	5.234	5.140	6.215
6	$Tm = GFR - H_{Hsr}$	mg/min	2.708	4.113	4.332	1.706	1.684	2.148	1.941	3.989	6.093	5.107	5.484	4.858	5.496	5.605
7	Tm %		83.07	90.40	93.32	84.20	86.8	86.9	78.42	91.09	95.0	94.3	92.84	93.50	94.10	90.19

Tabelle XV: Verhalten der Harnsäureausscheidung (H_{Hsr}; mg/24h; mg/min); Harnsäureclearance (C_{Hsr}; ml/min), Kreatininclearance (C_{Kr}, ml/min); glomeruläre Filtrationsrate (GFR_{Hsr}, mg/min), tubuläre „Netto"-Rückresorption absolut (mg/min) und in Prozenten.
Mittelwerte der Versuchspersonen Nr. 1 - 5. Durch HCl-Zusatz wird Spalte 1-3 und 6-7 beeinträchtigt; Kreatininclearance und Harnsäurefiltration bleiben unbeeinflußt.

Harnsäureausscheidung unter RNS-Zulage

Belastungsstufen			0 g	1 g	2 g	4 g	
Autor			Harnsäureausscheidung mg/24h Basisdiät				
NUGENT et al	1959	28	487			876	low purine food
SEEGMILLER et al	1962	34	469			988	Standarddiät
WASLIEN et al	1968	40	373		667	938	Formeldiät
GRÖBNER	1970	13	362			839	St.D. fast purinfr.
GRIEBSCH, ZÖLLNER	1970	11	593	650	750	936	Standarddiät
eigene Ergebnisse			468	508	550		Formeldiät

Tabelle XIV: Übersicht über die Harnsäureausscheidung bei RNS-Belastung.
Unsere niedrigen Werte sind auf quantitative Harnsäureausfällungen zurückzuführen (siehe Kapitel III, 4)

Unsere Harnsäureausscheidungen liegen somit deutlich unter den in der Literatur beobachteten Werten, obwohl die Plasmaspiegel deutlich ansteigen. Anscheinend wurden die Konzentrationen der Harnsäure im Urin zu niedrig bestimmt. In einer eigenen Versuchsserie bemühten wir uns die Fehlerquelle herauszufinden. (vergl. Kap. III, 4)

4. Untersuchungen zur Frage der Harnsäure-
ausfällung im Urin.

a.) Überprüfung der Eichkurve

Wir prüften, ob das Enzymangebot für das Substrat ausreichend war. Nach der Methode von Praetorius sollten 2 - 5 Einheiten Uricase pro Analyse verwendet werden. Wir hatten nur 1,5 Einheiten pro ml zur Verfügung.
1 ug bis 125 ug Harnsäure wurden mit bidestilliertem Wasser auf 0,1 bis 2,0 ml verdünnt.
Zur Aufstellung unserer Eichkurve benutzten wir verschiedene Verdünnungsreihen. Wir fügten der Harnsäurelösung je nach Verdünnung bis zu 1,9 ml Puffer-Gebrauchslösung und 0,5 bis 1,0 ml Uricase-Gebrauchslösung zu. (siehe Tabelle XVI) In Abbildung II trugen wir die eingesetzten Harnsäuremengen in ug und die Harnsäurekonzentrationen (mg %) gegen die abgelesenen Extinktionswerte auf. Für die Ansätze verwendeten wir 3 verschiedene Uricaseampullen, die wir jedesmal 1 : 200 verdünnten. Es stellte sich heraus, daß die Kurve im Bereich der von uns gemessenen Konzentrationen, nämlich 28,5 mg % bis 170,0 mg % linear ist. Die Enzymmenge reichte also für das angebotene Substrat aus.

b.) Nachmessungen eines bereits bestimmten Urins.

Wir überlegten uns, ob der Urin unter RNS-Belastung zu stark konzentriert war, und die angebotene Enzymmenge nicht ausreichte, die gesamte Harnsäure abzubauen. Aus diesem Grunde wollten wir die Urinkonzentration nochmals bestimmen, aber mit einer Vorverdünnung von 1 : 5. Wir wählten die Urine des 8. Tages der 1 g - Belastung unter Formeldiätbedingungen. Von der eingefrorenen Urinmenge nahmen wir pro Person jeweils 6 ml, schüttelten gut durch und verdünnten den Urin

Menge der Harnsäure [µg] absolut	Harnsäure-Konzentration [mg%]	verwendete Harnsäurelösung [ml] 10 mg% 1 ml ≙ 100 µg	verwendete Harnsäurelösung [ml] 1 mg% 1 ml ≙ 10 µg	Aqua bidest [ml]	Puffer-Gebrauchslösung [ml] (ph = 9,2 - 9,3)	Uricasegebrauchslösung Verdünnung 1:200 15 Einheiten Uricase pro ml [ml]	Uricasegebrauchslösung Eigenex. d. Uricase	Gesamtzusatz [ml]	Extinktion (abgelesen)	Extinktion + Extinktion$_{U}$
1	6.25		0.10	–	1.90	1.0	0.011	3	0.011	0.022
2	12.50		0.20	–	1.80	1.0	0.011	3	0.025	0.036
5	31.25		0.50	–	1.50	1.0	0.011	3	0.110	0.121
7.5	46.88		0.75	–	1.25	1.0	0.011	3	0.173	0.184
10	62.50		1.00	–	1.00	1.0	0.011	3	0.243	0.254
12	75.00		1.20	–	0.80	1.0	0.011	3	0.298	0.309
15	93.75		1.50	–	0.50	1.0	0.011	3	0.360	0.371
15	93.75		1.50	–	0.50	1.0	0.020	3	0.350	0.370
20	125.00		2.00	–	–	1.0	0.020	3	0.490	0.510
25	156.25	0.25		–	1.75	1.0	0.020	3	0.626	0.646
25	156.25	0.25		1.25	1.00	0.5	0.015	3	0.630	0.645
30	187.50	0.30		–	1.70	1.0	0.015	3	0.745	0.760
50	312.50	0.50		–	1.50	1.0	0.020	3	1.310	1.330
50	312.50	0.50		1.00	1.00	0.5	0.015	3	1.320	1.335
75	468.75	0.75		0.75	1.00	0.5	0.015	3	1.890	1.905
100	625.00	1.00		0.50	1.00	0.5	0.015	3	2.225	2.240
125	781.25	1.25		0.25	1.00	0.5	0.015	3	2.500	2.515

Tabelle XVI: Verschiedene Verdünnungsreihen, die zur Aufstellung der Eichkurve benötigt wurden.
Die Konzentrationen errechneten wir aus der abgelesenen Extinktion nach der Formel: $[Hst] = (E_{Hs} + E_{U}) \cdot 250$ [mg%]

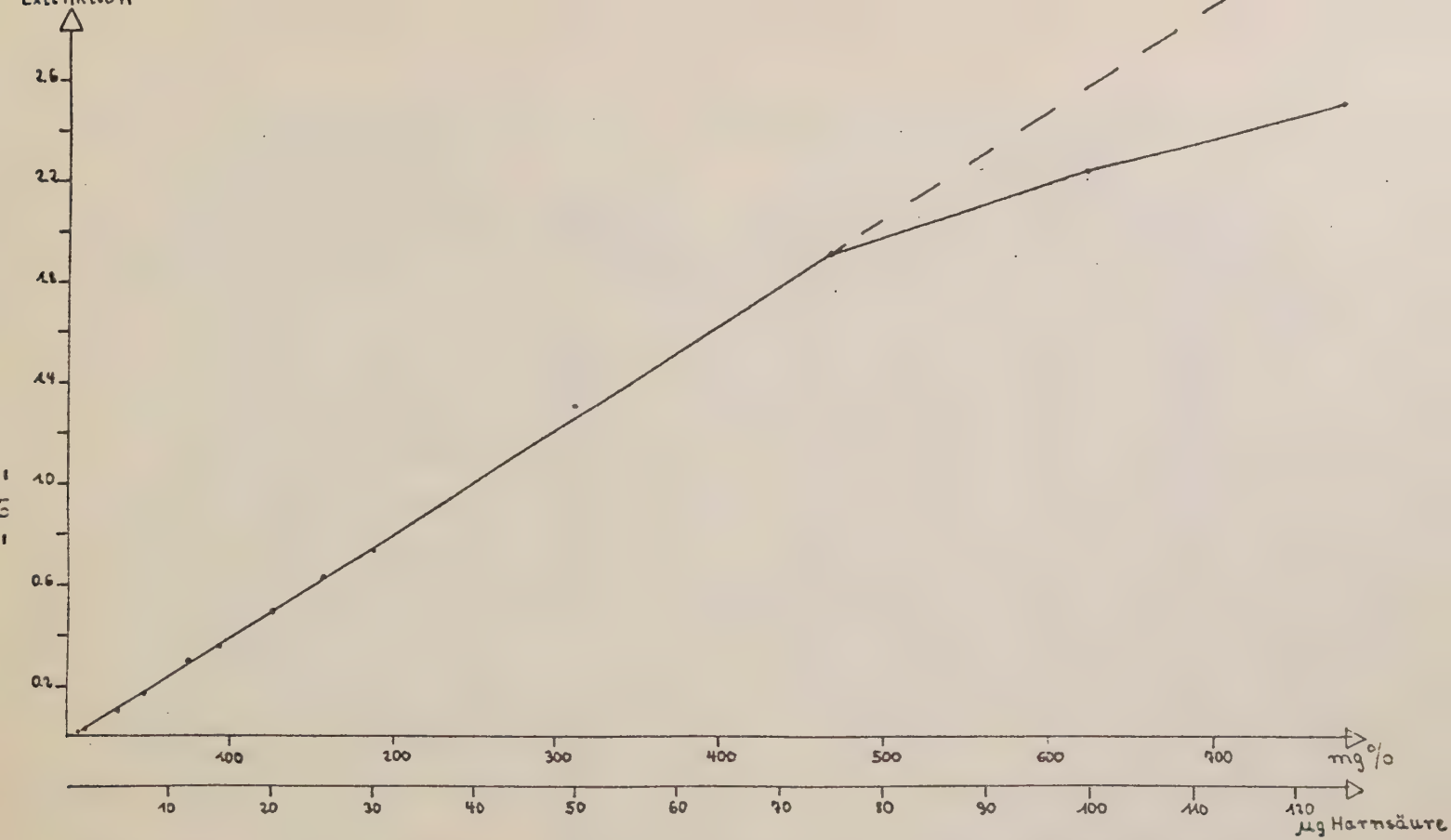


ABBILDUNG H : Eichkurve (Abszisse: Menge an Harnsäure µg; Harnsäurekonzentration mg%
Ordinate: abgelesene Extinktion)

	ERSTE BESTIMMUNG $E_u = 0.019$				KONTROLLBESTIMMUNG $E_u = 0.013$			
	abgelesene Extinktion	Mittel-wert	$E_{Hs} + E_u$	H_{sr} mg %	abgelesene Extinktion	Mittel-wert	$E_{HS} + E_U$	H_{sr} mg %
Versuchs-personen	E_{HS}				E_{HS}			
1	0.081 0.081	0.081	0.100	30.0	0.005 0.006	0.006	0.019	28.5
2	0.231 0.233	0.232	0.251	75.3	0.035 0.037	0.036	0.049	73.5
3	0.124 0.125	0.125	0.144	43.2	0.017 0.017	0.017	0.030	45.0
4	0.093 0.094	0.094	0.113	33.9	0.042 0.045	0.044	0.057	85.5
5	0.225 0.222	0.224	0.243	72.9	0.035 0.034	0.035	0.048	72.0
Standard 7.0 mg %	0.126 0.124	0.125	0.144	7.20				
10 mg %					0.191 0.193	0.192	0.205	10.25

Tabelle XVII: Kontrollbestimmung

(Bei der Kontrollbestimmung ist zu beachten, daß die Urine 1 : 5 vorverdünnt wurden. Daher mußte die errechnete Harnsäurekonzentration mit 5 multipliziert werden, um die ursprünliche Konzentration zu erhalten.)

1 : 5 mit Aqua destillata. Anschließend wurden die 5 Urine im Wasserbad vorsichtig erwärmt, um eventuell die gesamte Harnsäuremenge in Lösung zu bringen. Dann bestimmten wir die Konzentration der Harnsäure nach der gewohnten Methode. Es stellte sich heraus, daß die kontrollierten Harnsäurekonzentrationen mit ausreichender Genauigkeit mit den Erstbestimmungen übereinstimmten. (vergl. Tabelle XVII)

c.) Überprüfung der Abhängigkeit der Harnsäureausscheidung vom pH bzw. der HCL-Zugabe.

Um eine Oxydation der Harnsäure zu vermeiden, gaben wir in jeden Urinsammelbehälter 5 ml einer 5n HCL-Lösung. Durch gezielte Untersuchungen in Abhängigkeit von pH und HCL-Zugabe versuchten wir herauszufinden, ob es durch HCL-Zugabe zu pH Veränderungen bzw. zur Ausfällung der Harnsäure kommt.

α.) Wir wählten 3 verschiedene Tage der Formeldiät aus, den 8.Versuchstag, den 29. und den 30. Versuchstag, also aus der purinfreien Periode und der 2 g - Belastung und bestimmten den pH. Ein Blick auf Tabelle XVIII zeigt, daß am 29. und 30. Versuchstag der pH im Durchschnitt niedriger lag.

β.) Dann versuchten wir zu klären, ob die HCL-Zugabe einen Einfluß auf die Ausfällung der Harnsäure hat. Wir sammelten 2000 ml Urin verschiedener Versuchspersonen unter freigewählter Kost und vermischten ihn gut. Daraus entnahmen wir etwa 5 ml für Probe 1. Zu dem restlichen Urin schütteten wir 1,2 g Harnsäure, um Konzentrationen zu erreichen, wie sie unter Purinbelastung vorkommen, rührten kräftig um und verteilten den Urin auf 4 Behälter a 500 ml. (Probe 2, 3, 4, 5) (vergl. Tab. XIX)

Proben ml	1 5ml	2 500 ml	3 500 ml	4 500 ml	5 500 ml
pH vor Harnsäure Zugabe	5.5				
pH nach Harnsäure Zugabe von 1.2g in die Gesamtmenge von 2000 ml	-	5.5	5.5	5.5	5.5
HCL-Zugabe ml	-	4	4	2	-
pH nach HCL-Zugabe	-	3.7	3.7	4.5	
pH nach Rückneutralisation mit 0.1 n NaOH	-	-	5.5	-	-
pH nach Verdünnung mit Glycin-Puffer	8.85	8.80	8.80	8.80	8.80
Harnsäurekonzentration mg %	78.25	103.25	113.00	105.20	104.75

Tabelle XIX: Überprüfung der Harnsäureausfällung im Normalurin durch HCL-Zugabe

Versuchstag	8	29	30
Versuchs-Personen	pH	pH	pH
1	6.2	3.6	2.5
2	5.7	5.5	5.5
3	5.8	4.5	4.9
4	6.4	3.0	5.7
5	6.6	4.5	6.7

Tabelle XVIII: pH Messungen von Urinen unter purinfreier Ernährung und ohne HCL-Zugaben (8. Versuchstag) und unter 2g RNS Zulage und HCL-Zugabe (29. und 30. Versuchstag)

Ein Teil der Harnsäure hatte sich nicht gelöst. Die wirklich gelöste Harnsäure wird in Probe 5 bestimmt. Dann bestimmten wir den pH vor HCL-Zugabe und nach Zugabe von 4 ml bzw. 2 ml einer 5 n HCL-Lösung. Der pH sinkt nach HCL-Zugabe von 5,5 auf 4,5 bei Probe 4 mit einem Zusatz von 2 ml HCL, und von 5,5 auf 3,7 ab bei Probe 3 durch einen Zusatz von 4 ml HCL. Um die vielleicht ausgefallene Harnsäure wieder in Lösung zu bringen, neutralisierten wir Probe 3 mit 0,1n NaOH bis zum Erreichen des ursprünglichen pH. Bis der pH von 5,5 wieder erreicht war, mußten wir zu 5 ml Urin genau 2,5 ml einer 0,1n NaOH-Lösung zugeben. Diese Verdünnung muß bei der Berechnung der Harnsäurekonzentration berücksichtigt werden.

γ.) Simulation des Urins der Formeldiät und der Standarddiät zur Überprüfung der Harnsäureausfällung unter HCL:

Wir simulierten den Urin der Formeldiät, indem wir zu 500 ml Wasser 5g NaCL, 3 g KCL und eine Supradyntablette gaben.
Als Urin der Standarddiät nahmen wir 500 ml eines 24 Stundenurins einer männlichen gesunden Versuchsperson aus einem früheren Versuch (vergleiche Diss. JAKOB [19]) Von beiden bestimmten wir den pH (Formeldiät = 3,6) Standarddiät pH = 5,6), und gaben dann zum Urin der Formeldiät (A) 500 mg Harnsäure und zum Standarddiäturin (B) 300 mg Harnsäure, um Harnsäurekonzentrationen wie unter Versuchsbedingungen herzustellen. Nach Harnsäurezugabe bestimmten wir den pH, der sich nicht verändert hatte. Dann teilten wir in Proben a 100 ml auf und senkten den pH schrittweise durch Zugabe von HCL, (siehe Tabelle XX) entnahmen jeweils Proben und neutralisierten wieder zum alten pH zurück. Von sämtlichen Proben bestimmten wir die Harnsäurekonzentration. Es zeigte

Urinart	simulierter Formeldiäturin 500 ml H_2O, 5 g NaCl, 3 g KCl, 1 Supradyntabl. A					„Standarddiäturin" 24-Stundenurin einer männlichen Versuchsperson unter normalen Ernährungsbedingungen B						
ml pH	500 3.6				Probe 1A	500 5.6						Probe 1B
Harnsäurezugabe [mg] pH	500 3.6				2A	300 5.6						2B
	Aufteilung in Proben					à 100 ml						
Probe Nr.	2A	3A	4A	5A	6A	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B
Zugabe einer 5n HCl-Lösung [ml]		0.13		0.50			0.28		0.50		0.97	
pH	3.6	2.5 →		1.55 →		5.6	4.1 →		2.3 →		2.0 →	
Rückneutralisation der Proben 3A u. 5A bzw. 3B, 5B und 7B mit 5n NaOH-Lösung			0.13		0.50			0.28		0.45		0.90
pH			3.5		3.6			6.1		5.8		5.4
Harnsäurekonzentration [mg%]	57.90	35.70	37.80	16.80	16.20	98.40	93.90	94.20	95.70	94.80	95.10	96.30
in Prozent	100%	63%	70%	30%	30%	100%	95.%	95%	97%	95%	96%	97%

Tabelle XX : Überprüfung der Harnsäureausfällung durch HCl-Zugabe in simuliertem Formeldiäturin und „Standarddiäturin".

sich, daß bei "simuliertem Urin der Formeldiät" bei einem pH von 1,55 nur noch 30 % der in Lösung befindlichen Harnsäure bestimmt werden konnten. Die Harnsäurekonzentration nahm mit abnehmenden pH, d.H. mit vermehrter HCL-Zugabe stark ab. Bei einem pH von 3,6 waren 100 % in Lösung, bei einem pH von 2,5 nur 63 %, bei einem pH von 1,55 nur noch 30 %. Auch die Rückneutralisation mit NaOH konnte die Harnsäure nicht mehr in Lösung bringen. Es scheint zu sofortigen irreversiblen quantitativen Ausfällungen der Harnsäure zu kommen. Ganz anders verhält es sich bei dem Urin der Standarddiät. Hierkommt es nach Zugabe von HCL zu sehr geringen Ausfällungen. Bei einem pH von 2,0 konnten sogar noch 96,7 % der Harnsäure wiedergefunden werden.

Der Urin unter Standarddiät scheint also Lösungsvermittler zu enthalten, die im "simulierten Formeldiäturin" bzw. reinem Wasser als Lösungsmittel fehlen. Zur weiteren Überprüfung schien uns ein Vergleich zwischen den Urinen unter Normalkost, Standarddiät, und Formeldiät notwendig.

6.) Vergleich der Harnsäureausfällung im Urin unter Normalkost, Standarddiät und Formeldiät

Urin bei Normalkost: Wir sammelten den 24 Stundenurin einer gesunden Person und bestimmten pH und Harnsäurekonzentration (pH = 5,8 U_{Hsr} = 72,0 mg%). Dann teilten wir den Urin in 4 Proben a 100 ml auf und senkten den pH durch schrittweise Zugabe von 5 n HCL (vergl. Tabelle XXI. a) und zwar durch eine Zugabe von 0,15 ml HCL-Lösung auf pH 5,0; von 0,55 ml auf pH 2,9. Dann bestimmten wir jeweils die Harnsäurekonzentrationen. Einen Teil neutralisierten wir wieder mit 5n NaOH-Lösung zurück und bestimmten auch hier die Harnsäurekonzentrationen. Um auch eine eventuelle Oxydation

der Harnsäure quantitativ zu erfassen, ließen wir schließlich weitere Proben 3 Stunden an der Luft stehen und bestimmten dann nochmals die Harnsäurekonzentrationen. Es kommt zu keinen nennenswerten Änderungen der Harnsäurekonzentration durch Oxydation an der Luft. Auch der pH von 9,3 des Glycinpuffers wird durch HCL-Zugabe nicht beeinflußt.

Urin unter Standarddiät:

Dazu wurden Urine aus den ersten 7 Versuchstagen der Standarddiät zusammengeschüttet. Wir bekamen insgesamt 300 ml mit einer Konzentration von 68,4 mg % bei pH 5,9, die wir in 3 Proben a 100 ml aufteilten. Wieder senkten wir den pH durch HCL-Zugabe auf Werte zwischen 4,9 und 2,9, bestimmten die Konzentration der Harnsäure; neutralisierten zurück und bestimmten wieder die Konzentration, sowie die Konzentration nach Ablauf von weiteren 3 Stunden (vergl. Tabelle XXI b)

Urin unter Formeldiät:

Wir nahmen den Urin der 5 Versuchspersonen vom 7. bis 11. Versuchstag, also aus der purinfreien Periode, schüttelten ihn zusammen und bestimmten pH und Harnsäurekonzentration. Im weiteren Versuch gingen wir wie oben angegeben vor. (Vergleiche auch Tabelle XXI, c) Ein Blick auf die Tabelle XXI und Abbildung I zeigt, daß es nur bei Ansäuerung des Urins unter Formeldiät zu Ausfällungen der Harnsäure kommt. Es empfiehlt sich also bei Formeldiätversuchen eine Haltbarmachung des Urins mit anderen bakteriziden Substanzen, wie z.B. TOLUOL, die keine starken Schwankungen im pH des Urins hervorrufen.

.ℰ) Nochmalige Überprüfung der Harnsäureausfällung im Urin unter Formeldiät.

24-Stundenurin einer Normalperson bei freier Kost

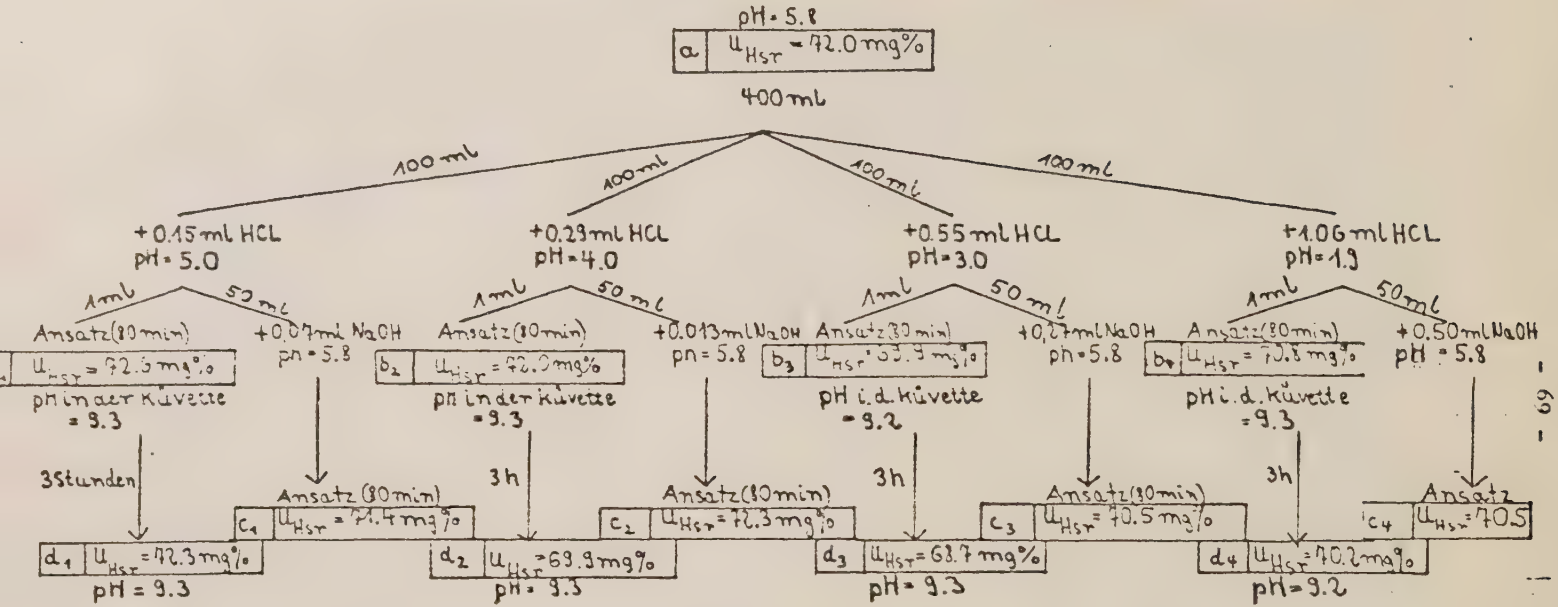


Tabelle XXI a: Ausbleiben einer quantitativen Harnsäureausfällung durch HCL-Zugabe im Urin einer Versuchsperson unter freigewählter Kost.

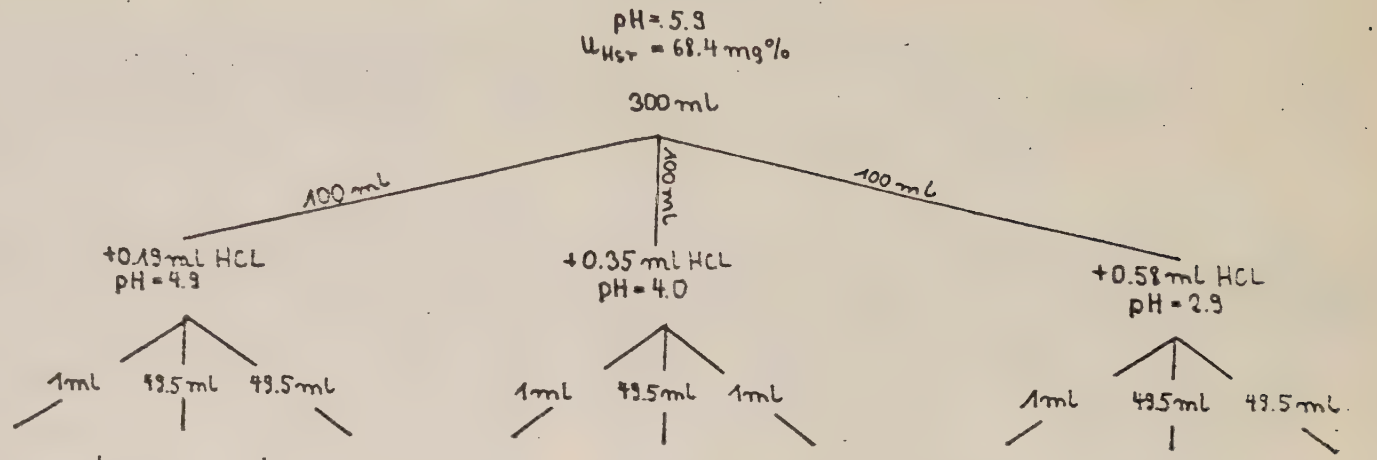
a = Harnsäurekonzentration im Ausgangsurin pH = 5.8

b = Harnsäurekonzentration bei verschiedenem pH (b_1 pH = 5.0; b_2 pH = 4.0; b_3 pH = 3.0; b_4 pH = 1.9)

c = Harnsäurekonzentration nach Rückneutralisation auf pH 5.8 (c_1 – c_4)

d = Harnsäurekonzentration nach 3 Stunden Verweilen in der Küvette (d_1 – d_4)

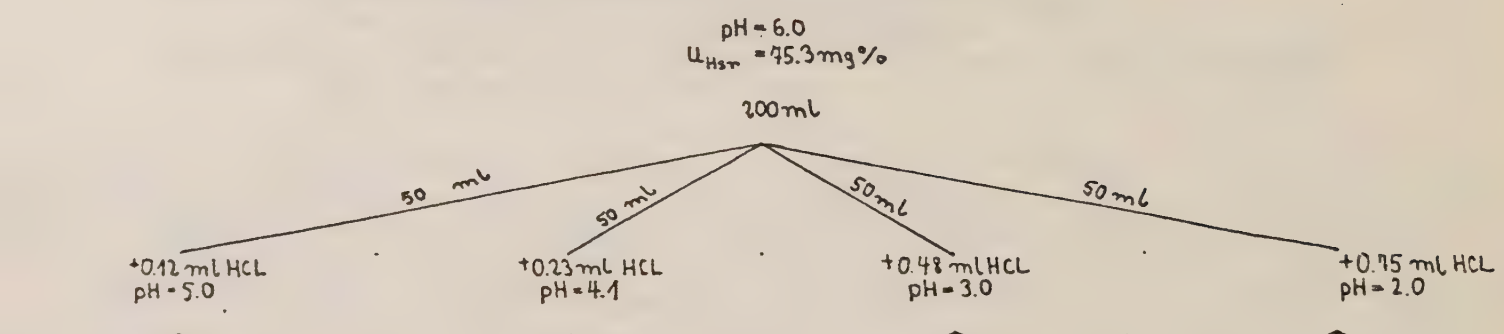
Urin aller Versuchspersonen der Tage 1-7 des Standarddiätversuchs.



	Ansatz pH in der Küvette 9.3	+0.09 ml NaOH pH = 5.9	Ansatz nach 3 Stunden	Ansatz pH in der Küvette 9.3	+0.19 ml NaOH pH = 5.9	Ansatz nach 3 Stunden	Ansatz pH in der Küvette 9.3	+0.29 ml NaOH pH = 5.9	Ansatz na 3 Stunder
U_{Hst}	68.4 mg%	69.0 mg%	67.8 mg%	66.9 mg%	67.8 mg%	67.2 mg%	66.9 mg%	66.9 mg%	68.1 mg%
%	100.0	101.0	99.0	98.0	99.0	98.5	98.0	98.0	99.5

Tabelle XXIb: Ausbleiben einer quantitativen Harnsäureausfällung durch HCL-Zugabe im Urin unter Standarddiät
U_{Hst} = absolute Konzentration der Harnsäure
% = Angabe der Harnsäurekonzentration in Prozent der Ausgangskonzentration

Urin aller Versuchspersonen der Tage 7-11 unter Formeldiät.



Ansatz pH = 9.3	+0.06 ml NaOH pH = 6.0	Ansatz nach 3 Stunden	Ansatz pH = 9.3	+0.13 ml NaOH pH = 6.1	Ansatz nach 3 Stunden	Ansatz pH = 9.3	+0.23 ml NaOH pH = 6.0	Ansatz nach 3 Stunden	Ansatz pH = 9.3	+0.40 ml NaOH pH = 6.1	Ansatz nach 3 Stunden
68 mg%	68.7 mg%	68.1 mg%	62.4 mg%	62.1 mg%	60.9 mg%	47.1 mg%	45.9 mg%	44.2 mg%	34.2 mg%	33.6 mg%	34.5 mg%
90	91	90	83	82	81	62	61	60	45	44	45

Tabelle 11 c: Harnsäureausfällung durch HCL-Zugabe im Urin unter Formeldiät.
u_{Hsr} = absolute Konzentration der Harnsäure.
% = Angabe der Harnsäurekonzentration in Prozent Ausgangskonzentration.
der Ausgangskonzentration.

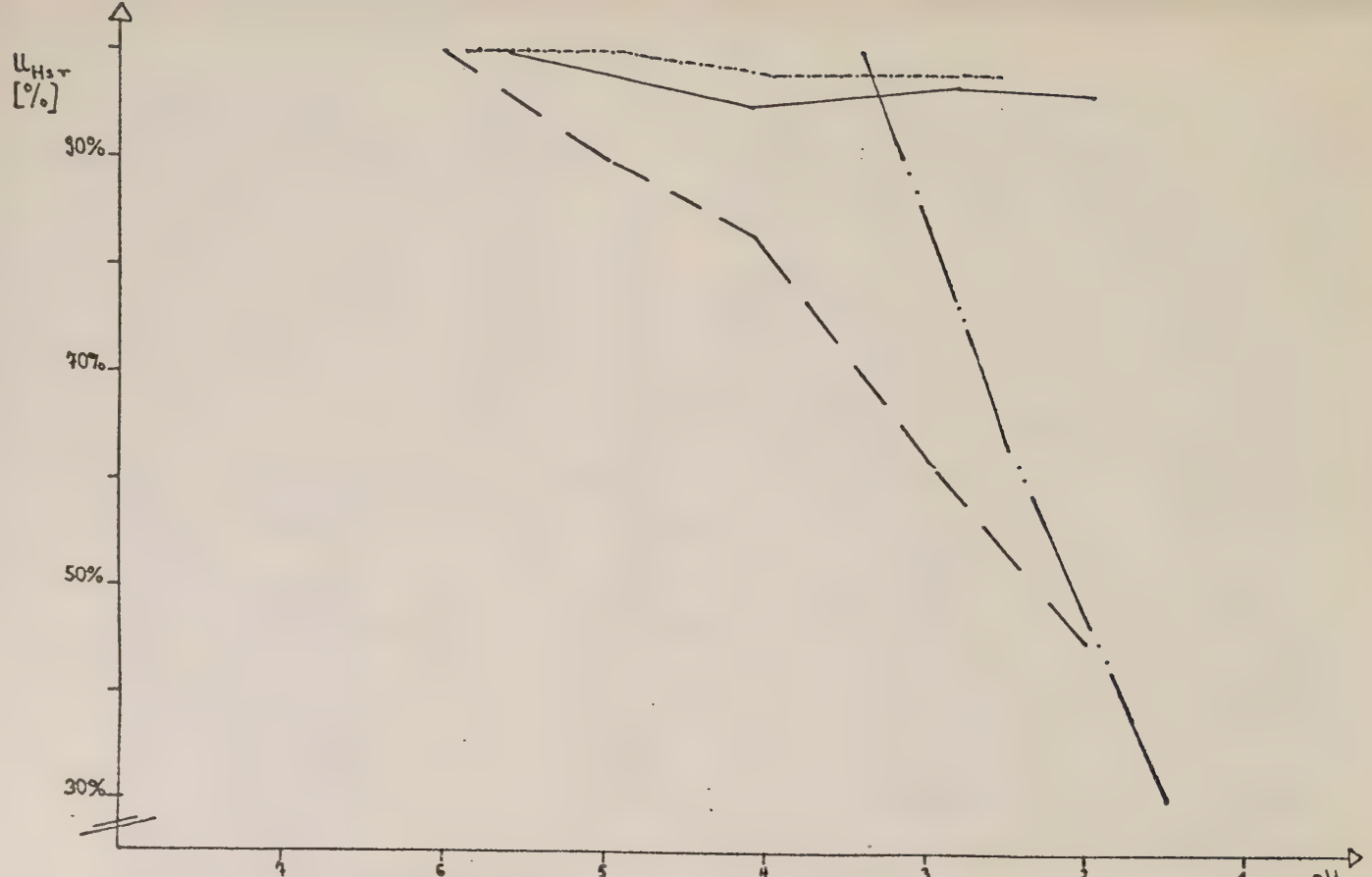


ABBILDUNG 3 : Vergleich der Harnsäureausfällung im Urin unter Normalkost ——, Standarddiät – – –, Formeldiät — —, und simuliertem Formeldiäturin ——··——. Man erkennt, daß der Urin unter Normalkost und Standarddiät keine Änderung der Harnsäurekonzentration nach HCL-Zugabe zeigt, während es unter Formeldiät und bei simulierten Formeldiäturin sofort zu quantitativen Ausfällungen der Harnsäure kommt.

Um Formeldiät mit einer Konzentration zu erhalten, wie sie bei RNS-Belastungen in der von uns gewählten Größenordnung auftritt, nahmen wir Urin der Versuchspersonen unter Formeldiät vom 2. - 6. Versuchstag und setzten Harnsäure zu, und zwar zu 200 ml insgesamt 60 mg Hsr, oder 0,3 g pro ml. (Wir wählten bei unseren Kontrollversuchen immer Urin aus der purinfreien Periode, weil zu diesem Zeitpunkt noch kein HCL in die Urinsammelbehälter gegeben wurde!) Wir bestimmten wieder die Harnsäurekonzentration, teilten in Proben auf und senkten den pH von 6,2 auf 5,2; 4,3; 3,2; 2,2 mittels Zusatz von 0,12 ml, 0,20 ml, 0,45 ml und 0,72 ml einer 5n HCL-Lösung. Die Harnsäurekonzentrationen nahmen ab: von 100 % auf 90 % auf 81 % auf 44 %. (absolut) Dann neutralisierten wir mit 5n NaOH zurück. Diesesmal erwärmten wir zusätzlich diese Proben vorsichtig in heißem Wasser (ca. 50°) um Harnsäure vielleicht dadurch wieder in Lösung zu bringen. Aber dies führte zu keiner wesentlichen Änderung der Harnsäurekonzentration. (vergl. Tab. XXII)

Zusammenfassung der Versuche zur Löslichkeit von Harnsäure im Urin.

Im Urin, der unter Formeldiätbedingungen gewonnen wurde, kommt es durch 5ml (5n) HCL-Lösung zu irreversiblen Ausfällungen von Harnsäure, ebenso in einem "simulierten" Urin, der Wasser und die Mineralzusätze und Vitaminzusätze der Formeldiät enthält.
Aus diesen Versuchen erkennt man, daß dieser Effekt nicht einfach vom pH abhängt, da er in Urinen unter Standarddiät und unter Normalkost bei gleicher pH Senkung nicht auftritt. Die gleichen HCL-Mengen verursachen so beim Urin unter Formeldiät Ausfällungen, die beim Urin unter Standdarddiät und Normalkost fehlen. Unter normaler Diät scheinen im Urin lösungsvermittelnde Substanzen vorzukommen, möglicherweise mit der Nahrung

Urin aller Versuchspersonen der Tage 2–6 des Formeldiätversuchs

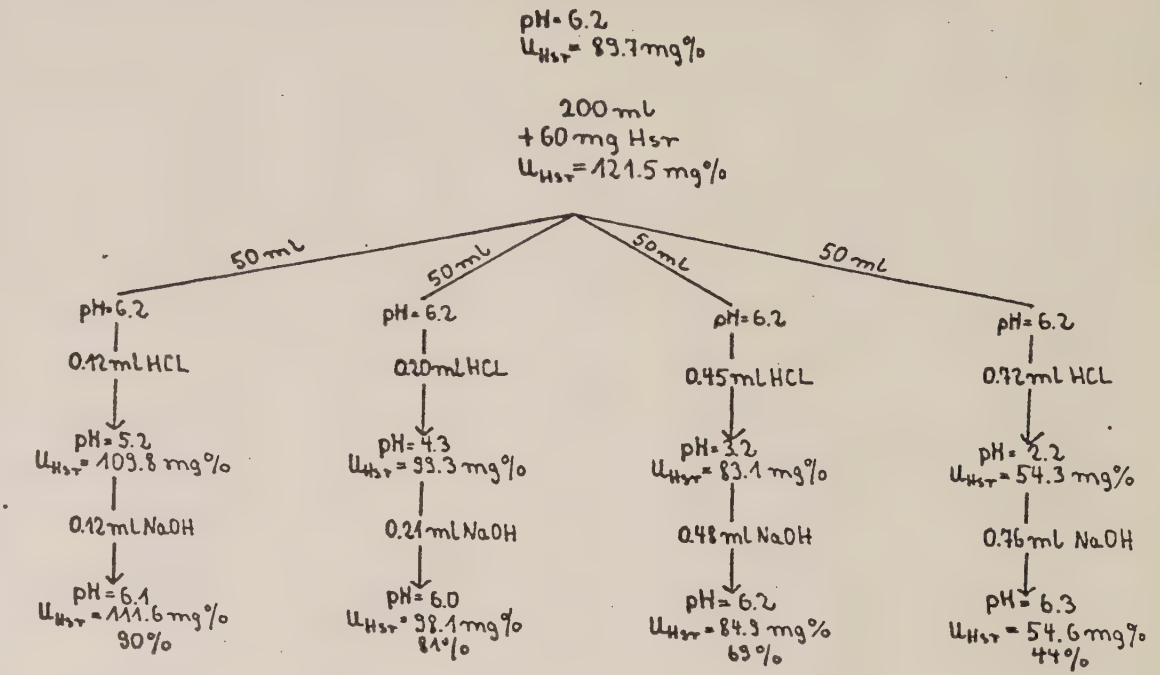


Tabelle XXII: Harnsäureausfällung im Formeldiätversuch.
(Die rückneutralisierten Proben wurden in heißem Wasser erhitzt und gut geschüttelt.)

aufgenommene alkalische Stoffwechselprodukte oder vielleicht Kolloide, die eine Ausfällung der Harnsäure trotz Absinken des pH bis 2,0 verhindern.

IV. Zusammenfassung

1. Unter den Bedingungen einer Formeldiät kann man den Einfluß exogener Nahrungs-Purine bei Studien über das Verhalten der Harnsäure unter Purinbelastung ausschalten.

2. Standardabweichungen und mittlerer Fehler sind daher unter Formeldiätbedingungen wesentlich geringer als unter Standarddiät oder frei gewählter Kost.

3. Dosierte Ribonukleinsäurezufuhr führt zu einer dosisabhängigen Erhöhung des Harnsäurespiegels im Plasma.

4. Unter Formeldiät tritt ein Steady-state im Plasmaspiegel der Harnsäure frühestens nach 9 - 11 Tagen auf.

5. Unter Formeldiätbedingungen kommt es durch HCL-Zugabe zum Sammelurin zu irreversiblen Ausfällungen der Harnsäure im Urin. Dies weist auf die Notwendigkeit hin, für solche Versuche von der Verwendung von HCL als Konservierungsmittel abzuraten.

6. Unter Standard-Diät bzw. frei gewählter Kost sind im Urin Lösungsvermittler enthalten, die eine quantitative Ausfällung von Harnsäure verhindern.

V. Literaturverzeichnis

1. AHRENS jr. Progress and Proceeding in Nuclein acids. Amer. J. of clin. Nutrit. 29, 336 (1951).

2. ALBRITTON, E.C. (Herausgeber): Handbook of biological data: Standard values in nutrition and metabolism. SAUNDERS, Philadelphia (1954) S. 241.

3. BENEDICT, J.D., P.H. FORSHAM and D. STETTEN, jr.: The metabolism of uric acid in the normal and gouty human, studied with the aid of isotopic uric acid. J. biol. Chem. 181, 183 (1949).

4. BERLINER, R.W., J.G. HILTON, T.F. Yü and T.J. KENNEDY, jr.: The renal mechanism for urate excretion in man. J. clin. Jnvest. 29, 396 (1950).

5. BONNER, E.: Harnsäureausscheidung im Sputum in Bezug auf die Plasmakonzentration bei Gesunden unter besonderer Berücksichtigung der Gichtkranken. Dissertation, München 1962.

6. BROCHNER - MORTENSEN, K.: Uric acid in blood and urine. Acta med. scand. Suppl. 134, 84 (1937).

7. BUZARD, J.,C. BISHOP and J.H. TALBOTT: Recovery in humans of intravenously injected isotope uric acid. J. biol. Chem. 196, 179 (1952).

8. DU BOIS, D. und E.F. DU BOIS: Nomogramm zur Bestimmung der Körperoberfläche. Arch. intern. Med. 17, 863 (1916).

9. FRANKE, H.: Manuskript und Vortrag. Thieme-Verlag, Stuttgart (1969).

10. GEIGY, I.R. AG: Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen. Basel, Schweiz, (1969).

11. GRIEBSCH, A. und N. ZÖLLNER: Verhalten der Harnsäurespiegel im Plasma unter dosierter Zufuhr von Nukleinsäuren. Verhandlungen der dt. Gesellschaft für Innere Medizin, 74, 849 (1970).

12. GRIEBSCH, A. und N. ZÖLLNER: Über die dosisabhängige Wirkung oral verabreichter DNA und RNA auf Harnsäurespiegel und Harnsäureausscheidung des Gesunden u. des Hyperurikämikers. Hoppe - Seyler's Z. physiol. Chem. 351, 1305 (1970).

13. GRÖBNER, W.: Der unterschiedliche Einfluß von Allopurinol auf die endogene und exogene Uratquote. European J. clin. Pharm., Vol. 3, Nr. 1 (Sept. 1970 Springer - Verlag, Berlin - Heidelberg - New York).

14. GUTMAN, A.B. and T.F. YÜ: Gout, a derangement of purine metabolism. Advance Intern. Med. 5, 227 (1952).

15. GUTMAN, A.B. and T.F. YÜ: Renal funktion in gout. Amer. J. Med. 23, 600 (1957).

16. GUTMAN, A.B., T.F. YÜ and L. BERGER: Tubular secretion of urate in man. J. clin. Invest. 38, 1778 (1959).

17. HAUGE, M. and B. HARVALD: Heredity in gout and hyperuricemia. Acta med. Scand. 152, 247 (1955).

18. HAWK, OSER and SUMMER SON: Practical physiological chemistry, Blakiston Co., 12th Edition, page 506 (1949).

19. JAKOB, L.: Verhalten der Harnsäure-Plasmaspiegel und der Harnsäureausscheidung bei dosierter Zufuhr von Purinen in Form von Ribonukleinsäure unter den Bedingungen einer Standarddiät. Diss. München 1972 im Druck

20. KALCKAR, H.M.: Differential spectophotometry of purine compounds by means of specific enzymes. J. Biol. Chem. 167, 429 (1947).

21. LÖFFLER, W., und F. KOLLER: Die Gicht, Handbuch der inneren Medizin. Bd. 7, 2. Teil, S. 435. Springer-Verlag 1955, Berlin-Göttingen-Heidelberg.

22. LIEBER, C.S., P. JONES, MISS LOSOWSKY, and C.S. DAVIDSON: Interrelation of uric acid am ethanol metabolism in man.J. clin. invest. Vol.41, No. 10, 1863 (1962).

23. LUCKE, H.: Das Harnsäureproblem und seine klinische Bedeutung. Ergebn. inn. Med. u. Kinderheilk. 44, 499 (1932).

24. MARSH, W.H., B. FINGERHUT und E. KIRSCH: Automatische Harnstoff - N - Bestimmung. Americ. I. clin. Path. 28, 681 (1937).

25. MOMMER, I.: Harnsäureausscheidung der Parotis bei Gesunden und Gichtkranken. Dissertation, München 1966.

26. NUGENT, C.A.: Renal urate excretion in gout studied by feeding ribonucleic acid. Arthritis rheumat. 8, 671 (1965).

27. NUGENT, C.A., W.D. Mac DIARMID and F.H. TYLER: Renal excretion of urate in patients with gout. Arch. Intern. Med. 113, 115 (1964).

28. NUGENT, C.A. and F.H. TYLER: The renal excretion of uric acid in patients with gout and nongouty subjects. J. clin. Invest. 39, 1890 (1959).

29. PETERS and ROCHRAMEL: Herausgeber: N. ZÖLLNER. Die renale Ausscheidung der Harnsäure: Progress in Nephrology. Springer-Verlag 1969 (Aus dem Symposiom der Gesellschaft für Nephrologie, 21. - 23. Sept. 1967 in Lausanne).

30. PETERS, I.P. and D.D. VAN SLYKE: Quantitative Clinical Chemistry, Interpretations, Bd. 1. Baltimore: Williams and Wilkins 1946.

31. POPPER, MANDEL, MEYER: Bestimmungsmethode von Kreatinin im Blut. Biochemische Zeitung Nr. 391, 1963.

32. PRAETORIUS, E. and H. POULSEN: Enzymatic determination of uric acid with detailed directions. Scand. I. Lab. Invest. 5, 273 (1953).

33. SANDBERG, A.A., G. E. CARTWRIGHT and M.M. WINTROBE: Studies on leukemia. I. Uric acid excretion. Blood 11, 154 (1956).

34. SEEGMILLER, I.E., A.I. GRAYZEL, R.R. HOWELL and C. PLATO: The renal excretion of uric acid in gout. I. clin. Invest. Vol. 41, No. 5 (1962). S. 1094

35. SEEGMILLER, I.E., A.I. GRAYZEL, L. Laster and L. LIDDLE: Uric acid production in gout. J. clin. Invest. 40, 1304 (1961).

36. SKEGGS, L.T.: Automatische Harnstoff-N-Bestimmung. Americ. J. clin. Path. 28. 311 (1957).

37. SMYTH, C.J.: Hereditary factors in gout. Metabolism 6, 218 (1957).

38. SORENSEN, L.B.: Degradation of uric acid in man. Metabolism 8, 687 (1959).

39. STEVENS, D.L., L.T. SKEGGS, A.L. CHASSON, H.J. GRADY und M.A. STANLEY: Kreatininbestimmung. J. clin. Path. 35, 83 (1961).

40. WASLIEN, C.J., D.H. CALLOWAY and S. Margen: Uric acid production in men fed graded amounts of egg protein and yeast nucleic acid. Am. J. clin. Nutrition, Vol. 21, No. 9, pp. 892 - 897 (1968).

41. WASLIEN, C.J., D.H. CALLOWAY, S. MARGEN, and F. COSTA: Uric acid levels in men fed algae and yeast as protein sources. J. food Science, Vol. 35, 294 (1970).

42 ZÖLLNER, N.: Eine einfache Modifikation der enzymatischen Harnsäurebestimmung. Z. Klin. Chem. 1. Jahrgang, Heft 6 (1963). S. 178

43. ZÖLLNER, N.: Gicht. Internist 1, 333 (1960).

44. ZÖLLNER, N.: (Herausgeber) Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten. Thieme-Verlag, Stuttgart (1957). S. 511

45. ZÖLLNER, N.: Moderne Gichtprobleme, Ätiologie, Pathogenese, Klinik. Ergeb. inn. Med. und Kinderheilk., N.F. 14, 321 (1960) Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg

46. ZÖLLNER, N.: Physiologie und Pathologie der Harnsäure. Praxis 53, 1122 (1965).

47. ZÖLLNER, N.,A. GRIESCH und I.k. Fink: Über die Wirkung von Brenzbromaron auf den Serumharnsäurespiegel und die Harnsäureausscheidung des Gichtkranken. Dtsch. med. Wsch. 48, 2405 (1970)

48. ZÖLLNER, N., A. GRIEBSCH und W. GRÖBNER: Einfluß verschiedener Purine auf den Harnsäurestoffwechsel. Ernährungsumschau, (1971, im Druck)

Herrn Professor Dr. W. Seitz möchte ich danken, daß er mir die Möglichkeit gab, meine Arbeit an seiner Klinik durchzuführen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. N. Zöllner, der mir das Thema der Arbeit überließ und Herrn Dr. Griebsch, der mir mit seinem Rat stets zur Seite stand.

Lebenslauf

Als Tochter des Beamten Bruno Hauberger und seiner Ehefrau Ursula, geb. Berger, wurde ich am 10.9.1947 in Reit bei Grassau geboren.
Von 1957 bis 1966 besuchte ich das Angerrealgymnasium in München und legte dort im Sommer 1966 die Reifeprüfung ab. Seit dem Wintersemester 1966/67 studiere ich an der Universität München Medizin. Im Sommersemester 1972 werde ich voraussichtlich mein Staatsexamen ablegen.